

Aus der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie
(Direktor: Prof. Dr. T. Schwarz)
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel
an der Christian –Albrechts-Universität
zu Kiel

RNase 7 IM BLUTSERUM VON PATIENTEN MIT CHRONISCH- ENTZÜNDLICHEN HAUTERKRANKUNGEN

Inauguraldissertation
zur
zur Erlangung der Würde eines Doktors der Zahnheilkunde
der Medizinischen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von

SHABNAM ARDEBILI

aus Tehran

Kiel 2011

1. Berichterstatter:

Prof. Dr. M. Weichenthal

2. Berichterstatter:

Prof. Dr. C. Dörfer

Tag der mündlichen Prüfung:

29.04.2011

Zum Druck genehmigt, Kiel, den

gez.:

MEINEN ELTERN

1. EINLEITUNG	6
1.1 Die Psoriasis	6
1.1.1 Pathogenese der Psoriasis	9
1.1.2 Therapie	11
1.2 Atopische Dermatitis	11
1.2.1 Pathogenese der atopischen Dermatitis	13
1.2.2 Das Immunsystem und Defizite bei Patienten mit atopischer Dermatitis	15
1.3 Erysipel	16
1.4 Zoster	17
1.5 Antimikrobielle Peptide	18
1.5.1 Antimikrobielle Peptide der gesunden menschlichen Haut	20
1.5.2 Antimikrobielle Peptide bei chronischen Hauterkrankungen	24
1.6 Fragestellung	27
 2. MATERIAL UND METHODEN	 29
2.1 Material und Geräte	29
2.1.1 Geräte	29
2.1.2 Verbrauchsmaterialien	29
2.1.3 Verwendete Chemikalien (Bezugsquelle)	30
2.1.4 Puffer und Lösungen	31
2.2 Antikörper	32
2.3 Patienten	32
2.3.1 Psoriasis-Patienten	32
2.3.2 Neurodermitis-Patienten	34
2.3.3 Patienten mit anderen entzündlichen Hauterkrankungen	35
2.4 ELISA	35
2.5 Herstellung einer Standardreihe für ELISA-Untersuchungen	36
2.5.1 Optimierung des Testverfahrens	37
2.6 Nachweis von RNase 7 mit dem Sandwich-ELISA	37
2.6.1 Auswertung des ELISA-Tests	38
2.6.2 Statistische Analyse	39
 3. ERGEBNISSE	 41
3.1 Basisdemografie	41
3.2 Nachweis von RNase 7 bei Normalkontrollen	42
3.3 RNase 7 bei Psoriasis	44
3.3.1 Demografische Daten der Psoriasispatienten	44
3.4 RNase 7 bei der atopischen Dermatitis	46
3.4.1 Demografische Daten von Patienten mit atopischer Dermatitis	46
3.5 RNase 7 Konzentration bei Psoriasis und anderen entzündlichen Hauterkrankungen	47
3.5.1 Die RNase 7 Konzentration	48

3.6 Die Schwere der Erkrankung während der Therapie	49
3.7 Die Korrelation vom PASI-Score bei Psoriasis mit der RNase 7 Konzentration	51
3.8 Die Korrelation vom EASI-Score bei atopischer Dermatitis mit der RNase 7 Konzentration	52
4. DISKUSSION	54
4.1 Zusammenstellungen der Gruppen	54
4.2 RNase 7 bei gesunden Probanden	55
4.3 RNase 7 bei Psoriasis	58
4.4. Atopische Dermatitis und RNase 7	61
4.5 RNase 7 bei infektiösen Hauterkrankungen	63
5. ZUSAMMENFASSUNG	66
6. LITERATURVERZEICHNIS	68
7. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	76
8. ANHANG	79
9. DANKSAGUNG	82

1. Einleitung

Die Haut mit einer Oberfläche von ca. 1,5-2 m² ist eines der wichtigsten Barriereorgane des Menschen. Störungen dieser Hautbarriere, z. B. durch entzündliche Hauterkrankungen, nehmen beständig zu. 10-20% der Bevölkerung erkranken bereits im Kindesalter am atopischen Ekzem (Neurodermitis). Weitere 1-3% folgen als Jugendliche oder Erwachsene. Die Schuppenflechte (Psoriasis) betrifft 2% der Gesamtbevölkerung.

Auch assoziierte Erkrankungen, wie die Gelenkbeteiligung bei Psoriatikern oder allergische Atemwegserkrankungen bei Atopikern, stellen ein zunehmendes Problem dar.

Die Ursachen für diese Entwicklung sind bislang nicht vollständig geklärt. Neben klassischen Mechanismen der Immunstörung treten neuere Erkenntnisse über die angeborene Immunität zunehmend in den Fokus der Forschung. Die vorliegende Arbeit widmet sich dem Zusammenhang zwischen entzündlichen Hauterkrankungen und dem antimikrobiellen Peptid RNase 7.

1.1 Die Psoriasis

Psoriasis (Schuppenflechte) war bereits im Altertum bekannt und wurde ca. 460-370 v. Chr. vom griechischen Arzt Hippokrates erwähnt, hier aber nur unscharf von anderen entzündlichen Hauterkrankungen abgegrenzt.

Zu Beginn des 19. Jahrhunderts in England wurde sie erstmals von Robert Willan (1715-1812) klinisch genauer beschrieben, der sie jedoch als zwei verschiedene Erkrankungen, Psora leprosa und Lepra graecorum, ansah. Der österreichische Arzt Ferdinand Ritter von Hebra beschrieb 1809 erstmals die "Psoriasis" als eigenständiges Krankheitsbild. Er wies nach, dass die von Willan beschriebenen unterschiedlichen Erscheinungsformen ein und derselben Erkrankung zugeordnet werden können und grenzte diese von anderen Erkrankungen, vor allem der Lepra, ab.

Die Psoriasis vulgaris ist die häufigste Form der Psoriasis. Klinisch kennzeichnend für diese Erkrankung sind scharf begrenzte erythematöse Plaques mit charakteristisch weiss-silbriger Schuppung. Weitere Erscheinungsformen sind die pustulösen, exanthematischen, erythrodermatischen und intertriginösen Formen.

Mit einer Prävalenz von ca. 2% der Bevölkerung ist die Psoriasis vulgaris in Europa und USA eine der häufigsten und bedeutsamsten Hauterkrankungen. In Deutschland sind schätzungsweise 1,5 Mio. Menschen von dieser Erkrankung betroffen ¹.

Die Erkrankungsrate variiert abhängig von der geografischen und ethnischen Zugehörigkeit. Die Prävalenz der Erkrankung ist in den nördlichen Ländern deutlich höher als in Äquatornähe. Während hellhäutige Rassen am häufigsten erkranken, sind Asiaten und Dunkelhäutige weniger betroffen und bei Menschen mit indianischer Abstammung und Eskimos kommt die Psoriasis so gut wie nie vor.

Die Psoriasis vulgaris tritt in 2/3 der Fälle im zweiten bis vierten Lebensjahrzehnt erstmalig auf und nimmt dann häufig einen schubweisen rezidivierenden Verlauf. Allerdings kann sich die Psoriasis in jedem Alter manifestieren ².

Das Erkrankungsrisiko steigt, je mehr Blutsverwandte erkrankt sind. Etwa 40% aller Patienten mit Psoriasis oder Psoriasisarthritis haben eine positive Familienanamnese. Homozygote Zwillinge weisen eine Konkordanz von 60-90% für Psoriasis auf.

Die Psoriasis ist mit einer Reihe von Suszeptibilitätsgenen assoziiert. In Kopplungsstudien konnten bisher neun „psoriasis susceptibility loci“ (PSORS1-PSORS9) bestätigt werden. PSORS1 liegt auf dem Chromosom 6 (6p21) und hat genetisch bislang die größte Bedeutung ³, denn es wird mit den meisten Psoriasis-erkrankungen in Verbindung gebracht und reflektiert die Assoziation der Psoriasis mit HLA-Cw6 ⁴. Weitere genetische Assoziationen mit Psoriasis betreffen Zytokine, insbesondere IL-12 und IL-23, die als Risikogen neben Psoriasis auch für Morbus Crohn gelten. Einige dieser Gene assoziieren auch mit anderen Immunerkrankungen (rheumatische Arthritis, Diabetes) ⁵.

Nach Henseler und Christophers wird die Psoriasis in zwei Subtypen differenziert. Hiernach wird die Psoriasis mit einem frühen Beginn (< 40. Lebensjahr) und einem Gipfel in der zweiten Lebensdekade als Typ I und eine Psoriasis mit einer Erstmanifestation jenseits des 40. Lebensjahres mit einem Gipfel in der sechsten Lebensdekade als Typ 2 definiert ⁶. Patienten mit Psoriasis Typ I weisen eine signifikante Assoziation mit HLA-Antigenen A2, B13, B27, Bw57, Cw2, Cw6 und DR7 auf. Bei Patienten, die das HLA-Antigen Cw6 aufweisen, ist das Erkrankungsrisiko um das 10-fache erhöht ^{6; 7}.

Der klinische Verlauf dieser Patienten ist durch häufige Rezidive und schwere Ausprägung der Effloreszenzen gekennzeichnet. Häufig wird sie durch eine Streptokokkeninfektion ausgelöst. Der Typ II der Psoriasis, bzw. der sogenannte Spättyp, weist häufig eine negative

Familienanamnese, eine fehlende Assoziation zu genetischen Markern und einen allgemein leichteren Verlauf auf ⁶.

Die Erkrankung wird von weiteren Faktoren, wie Umwelteinflüssen und Stress beeinflusst. Durch eine Infektion der oberen Atemwege mit Streptokokken entwickelt sich häufig bei jüngeren Patienten das Bild einer eruptiven, kleinfleckigen Psoriasis (Psoriasis guttata) als Erstmanifestation der Psoriasis ⁸, die durch weitere Streptokokkeninfektion erneut ausgelöst werden kann und häufig in eine klassische Plaquetyp-Psoriasis übergeht. Die schuppenden, geröteten Entzündungsherde treten häufig an den Prädilektionsstellen, wie den Streckseiten großer Gelenke (insbesondere Knie und Ellenbogen) und dem behaarten Kopf, umbilikal und perianal stark auf. Die Plaques können zu großen Arealen konfluieren oder sich universell ausbreiten, was allerdings selten vorkommt. Ist das gesamte Integument befallen, spricht man von psoriatischer Erythrodermie. Klinisch ist das gesamte Integument stark entzündlich gerötet. Die Lymphknoten sind partiell oder generalisiert geschwollen und es besteht ein erhebliches Krankheitsgefühl, teilweise tritt Fieber, verbunden mit Wärme und Eiweißverlust auf.

Als Psoriasis Pustulosa bezeichnet man Formen der Psoriasis, bei denen es zusätzlich zu den Zeichen der Psoriasis zur Pustelbildung kommt. Hier muss zwischen lokalisierten- (Psoriasis cum pustulatione, Palmoplantare Pustulose und Acrodermatitis continua suppurativa (Hallopeau)) und generalisierten Formen (Psoriasis pustulosa generalisata von Zumbusch und Impetigo herpetiformes) unterschieden werden. Die lokalisierte Form, Psoriasis cum pustulatione, stellt eine chronische Plaque-Typ-Psoriasis mit Ausbildung steriler Pusteln im Randbereich bestehender Plaques dar. Die palmoplantare Pustulose ist heute aufgrund klinischer und genetischer Studien eine eigenständige, mit Psoriasis assoziierte Erkrankung. Hierbei kommt es zur sterilen Pustelbildung auf scharf begrenztem, geröteten Grund an Handflächen und/ oder Fußsohlen.

Bei der Acrodermatitis continua suppurativa liegt ein entzündlich- pustulöser Befall der Endglieder der Finger und Zehen vor. Die Nägel der befallenen Finger und Zehen sind mitbetroffen und werden nicht selten völlig zerstört. Die generalisierte Psoriasis pustulosa (von Zumbusch) ist eine seltenere, jedoch die schwerste Verlaufsform der Psoriasis, bei der es zur generalisierten Pustelbildung auf entzündlich gerötetem Grund kommt. Meist tritt diese Form nach plötzlichem Absetzen einer systematischen Therapie mit Kortikoiden und Methotrexat ein und kann Komplikationen wie Bronchiopneumonien oder Leberstoffwechselstörungen nach sich ziehen. So stellt in diesem Fall eine topische Behandlung allein keine ausreichende Therapie dar. Eine weitere sehr seltene, generalisierte

Form ist die Impetigo herpetiformis, die in der Schwangerschaft vermutlich aufgrund hormoneller Veränderungen auftritt.

Bei ca. 15% der Psoriasispatienten tritt eine chronisch-entzündliche Gelenkerkrankung auf, die als Psoriasis-Arthritis (PsA) bezeichnet wird. Betroffen sind die kleinen Gelenke der Finger und Zehen und typischerweise beteiligt sind die distalen Interphalangealgelenke oder auch einzelne große Gelenke. Eine Nagelbeteiligung tritt häufig (60-90%) bei der psoriatischen Arthritis auf und stellt diesbezüglich ein Warnsignal dar.

Bei etwa 30% der Patienten betrifft der psoriatische Entzündungsprozess die Nagelmatrix und/oder das Nagelbett und führt zu typischen Nagelveränderungen, die als Nagelpsoriasis zusammengefasst werden. Die Nägel können in Form von Tüpfelnägeln, „Ölflecken“ (gelbliche Flecken in der Nagelplatte), Onycholyse und Onychodystrophie verändert sein.

Des Weiteren konnte in verschiedenen Studien aufgezeigt werden, dass die chronische Plaquetyp-Psoriasis in direktem Zusammenhang mit dem Auftreten von kardiovaskulären Erkrankungen und Diabetes mellitus steht ⁹.

Es ist anerkannt, dass chronische Entzündungen metabolische und vaskuläre Erkrankungen verursachen können. Dabei ist anzunehmen, dass proinflammatorische Zytokine zur Arteriosklerose, zur peripheren Insulinresistenz, zur Entwicklung von Hypertonie und Typ II Diabetes beitragen. In der Studie von *Sommer et al.*, ergab sich ein klares Muster der chronischen Erkrankung, welches signifikant mit Psoriasis, Diabetes Typ II, arterieller Hypertonie, Hyperlipidämie und koronarer Herzerkrankung assoziiert ist ¹⁰.

Die Kombination dieser Erkrankungen mit Adipositas, bekannt als „metabolisches Syndrom“, tritt signifikant häufig bei Psoriasispatienten auf. Zusätzlich ist der Tabak- und Alkoholkonsum bei diesen Patienten stark erhöht. Das hohe Risiko, den Spätfolgen der kardiovaskulären Erkrankungen zu erliegen, unterstützt die systemische Therapie bei Psoriasis ¹⁰.

1.1.1 Pathogenese der Psoriasis

Die Psoriasis vulgaris ist histologisch gekennzeichnet durch eine Hyperplasie sowie Parakeratose der Epidermis, ausgeprägte Leukozyteninfiltrate und vermehrte und dilatierte Gefäße.

Bei der Psoriasis ist der Entwicklungsweg der proliferierenden Basalzellen der Epidermis zu den Hornzellen des Stratum corneums von 30 Tagen auf 3 Tage vermindert. Zudem zeigen

sich in der oberen Dermis deutliche Kapillarelongationen- und ausweitungen sowie ein ausgeprägtes entzündliches Infiltrat aus Lymphozyten und neutrophilen Granulozyten, die ebenfalls die Epidermis durchwandern. Im subcornealem Raum ist eine Ansammlung von neutrophilen Granulozyten in den sogenannten Munro'schen Mikroabszessen typisch.

So nehmen in der Entstehung der Psoriasis drei Komponenten Keratinozyten, Entzündungszellen und Endothelzellen eine wesentliche Rolle ein.

Im Laufe der Jahrzehnte wurden zur Entstehung der Psoriasis verschiedene Konzepte aufgestellt wie z. B. Funktionsstörungen der Keratinozyten als Primärursache oder die Vorstellung über eine gestörte Blutgefäß-Proliferation, vor allem aber das Konzept der Autoimmunerkrankung. Nach derzeitiger Auffassung spielt in der molekularen Pathogenese das Zusammenspiel angeborener und erworbener Immunität eine bedeutende Rolle.

Zunächst kommt es vermutlich zur Aktivierung von besonderen dendritischen Zellen (DZ) und Makrophagen, eventuell durch ein (unbekanntes) Antigen in der Epidermis und Dermis. Diese DZ produzieren Botenstoffe wie den Tumor-Nekrose-Faktor (TNF- α) und IL-23. Zusammen mit IL-6 und TGF- β führen sie zur Aktivierung von Th-17-Zellen. Diese T-Zellen tragen durch die Bildung von Mediatoren zu den vaskulären und epidermalen Veränderungen der Psoriasis bei. Die Th-17 Zellen, als eine Untergruppe von CD4⁺ T-Zellen, produzieren unter anderem IL-17 und IL-22, die in der Pathogenese der Psoriasis eine wichtige Rolle spielen.

Betrachtet man das komplexe Zytokinnetzwerk der Psoriasis vulgaris genauer, so kommt den Vertretern der Interleukin- 12 Familie, insbesondere IL-23, eine besondere Bedeutung zu. In klinischen Studien konnte ein therapeutischer Nutzen mit neutralisierenden Antikörpern gegen die p₄₀-Untereinheit von IL-12 und IL-23 bei Patienten mit Psoriasis vulgaris identifiziert werden ¹¹. *Chang et. al* konnten aufzeigen, dass eine intradermale Injektion von IL-23 über eine Kaskade von Effekten die Ausbildung eines Erythems, ausgeprägte dermale Leukozyteninfiltrate und eine epidermale Hyperplasie mit Parakeratose auslöst ^{12; 13}. Die IL-23 verursachten Effekte waren unabhängig von IL-17A, IL-19, IL-24, nicht aber vom TNF- α und IL-20R2 ¹². Neben IL-23, TNF- α und IL-20R2 wurde IL-22, ein weiterer Botenstoff als ein wichtiger Vermittler des IL-23- induzierten Leukozyteninfiltrates und der epidermalen Hyperplasie identifiziert ¹³.

Auch dieses pathogenetische Konzept ist nicht abschließend. Ob die primäre Ursache für Psoriasis auf einer Störung der Keratinozyten, der Endothelzellen oder des Immunsystems beruht, ist bis heute nicht ohne jeden Zweifel geklärt. So ist es bisher auch nicht gelungen, ein Antigen als Auslöser für die Psoriasis zu identifizieren. Auch an welcher Stelle die genetische

Prädisposition für die Entwicklung der Psoriasis zum Tragen kommt, ist unklar. Die Aufklärung der Psoriasis-assoziierten Genloci befindet sich in der Entwicklung⁵.

Einen wichtigen Bestandteil im System der angeborenen Immunität stellen die Antimikrobiellen Peptide (AMP) dar. Es konnte gezeigt werden, dass nahezu alle identifizierten AMP in Psoriasisläsionen vermehrt vorkommen¹⁴. Charakteristisch für die Psoriasis ist die Überexpression von antimikrobiellen Peptiden, was als Zeichen der Aktivierung des angeborenen Immunsystems verstanden werden kann. So erklärt sich möglicherweise, dass im Gegensatz zur atopischen Dermatitis eine bakterielle Superinfektion von Psoriasisläsionen klinisch selten beobachtet wird.

1.1.2 Therapie

Die Behandlungsmethoden der Psoriasis führen lediglich zu einer Linderung des Krankheitsbildes, jedoch nicht zu einer Heilung. Für die Therapie von Psoriasis stehen verschiedene Lokaltherapeutika, die Therapie mit ultraviolettem Licht und Systemtherapeutika, die in unterschiedlichem Ausmaß auch kombiniert werden können, zur Verfügung. Bei einer leichten bis mittelschweren Psoriasis kann eine alleinige Lokaltherapie zu einem ausreichenden Erfolg führen.

Zur topischen Therapie kommen Externa wie Vitamin-D3-Analoga, Dithranol, Kortikosteroide, Keratolytika, häufig in Kombination zur Anwendung.

Als systemische Therapie werden Retinoide, Fumarate sowie Immunsuppressiva wie Methotrexat und Ciclosporin eingesetzt. Eine große Bereicherung des therapeutischen Repertoires stellen die für die Psoriasis zugelassenen Antikörper und „small molecules“ dar. Bei Patienten, bei denen herkömmliche Systemtherapeutika nicht (mehr) ausreichen, kommen diese sog. „Biologicals“ zum Einsatz. Hierbei handelt es sich um Fusionsproteine oder Antikörper. Diese blockieren gezielt Signalwege des fehlregulierten Immunsystems und lindern die klinischen Symptome.

1.2 Atopische Dermatitis

Die atopische Dermatitis (AD), auch Neurodermitis genannt, ist eine multifaktorielle, chronisch-entzündliche Hauterkrankung, von der weltweit bis zu 10-20% der Kinder und

1-3% der Erwachsenen betroffen sind ¹⁵. Die atopische Dermatitis wird zusammen mit der allergischen Rhinokonjunktivitis und dem allergischen Asthma bronchiale zu den Erkrankungen des atopischen Formkreises gerechnet.

Die Prävalenz der AD hat sich in den westlich industrialisierten Ländern in den vergangenen 30 Jahren verdoppelt bis verdreifacht, wohingegen sich in Ländern mit vorwiegend landwirtschaftlicher Kultur eine deutlich niedrigere Prävalenz findet ¹⁶.

Für diese Tendenz werden vor allem die Besonderheiten des westlichen Lebensstils verantwortlich gemacht. Die Inzidenz infektiöser Erkrankungen im frühen Kindesalter hat sich infolge von verbesserten hygienischen Verhältnissen sowie moderner Impfprogramme vermindert. Andererseits hat sich das Atopierisiko in der Bevölkerung kontinuierlich erhöht. Die „Hygiene-Hypothese“, geht von einem direkten Zusammenhang beider Phänomene aus ¹⁷. Sie wurde erstmals von Strachan 1989 aufgestellt: Die frühkindlichen Infekte wirken sich präventiv auf die Entwicklung allergischer Erkrankungen aus. Die Zunahme von atopischen Erkrankungen resultiert somit aus der Reduzierung potenzieller Infektionsquellen ¹⁸. Diese werden durch die Verkleinerung der Familiengröße sowie durch das Erreichen von einem höheren hygienischen Standard im häuslichen Umfeld erreicht.

Zahlreiche Studien wurden in den letzten Jahren zur Überprüfung der „Hygiene-Hypothese“ etabliert. Eine Studie konnte belegen, dass der Einsatz von Antibiotika im 1. Lebensjahr bei gleichzeitiger atopischer Prädisposition das Risiko für atopische Erkrankungen erhöht ¹⁹.

Eine weitere Studie konnte zeigen, dass der anthroposophische Lebensstil mit einem geringeren Atopierisiko einhergeht. Nach anthroposophischen Grundsätzen werden der Einsatz von Antibiotika und Impfungen vermieden ²⁰.

Eine weitere Untersuchung an Schulkindern mit einem Lebensalter von etwa 9 Jahren in Europa demonstrierte, dass bei Kindern, die eine Wurminfektion durchgemacht haben, die Symptome der atopischen Dermatitis und die Entwicklung von Sensibilisierungen vom Soforttyp signifikant seltener zu beobachten sind ²¹.

Auch geographische Unterschiede konnten beobachtet werden. So existiert innerhalb von Europa ein deutlicher Ost-West-Gradient. Die Inzidenz von atopischen Erkrankungen in westeuropäischen Ländern liegt trotz des ethnisch gemeinsamen Ursprungs weit über der Inzidenz von osteuropäischen Ländern ²². Auch in Deutschland bestand vor der Wiedervereinigung dieser Unterschied zwischen Ost- und Westdeutschland. Die Häufigkeit atopischer Erkrankung nahm anschließend in Ostdeutschland stark zu ²³.

Das Risiko, in den ersten Lebensjahren an einer atopischen Dermatitis zu erkranken, lässt sich möglicherweise dann vermindern, wenn Lactobazillen in den ersten 6 Monaten postpartal von

der Stillenden aufgenommen werden oder in den ersten 6 Lebensmonaten direkt vom Säugling mit der Nahrung aufgenommen werden ²⁴. Eine weitere Studie besagt jedoch, dass für die Behandlung bereits an Neurodermitis erkrankter Säuglinge und Kleinkinder mit Lactobacillen, keine Anzeichen für eine unterstützende therapeutische Wirkung vorliegt ²⁵.

Kennzeichnend für diese Erkrankung ist ein juckendes Ekzem, das abhängig vom Alter der Betroffenen unterschiedliche Prädispositionsstellen aufweist. Das Ekzem im Säuglingsalter tritt vorwiegend an den Wangen, auf der Kopfhaut und am Rumpf auf, während im Kindes- und Erwachsenenalter eher die großen Beugen, die Hals- und Nackenregion sowie Hand und Fußrücken betroffen sind. 70-80% der AD-Patienten weisen einen erhöhten Plasma-IgE-Spiegel und/ oder eine Typ-I-Sensibilisierung gegenüber Umweltallergenen auf (extrinsische AD), während manche Patienten weder einen erhöhten Plasma-IgE-Spiegel noch Sensibilisierungen aufweisen (sog. intrinsische AD) ²⁶.

1.2.1 Pathogenese der atopischen Dermatitis

Bei der AD handelt es sich um eine pathophysiologisch komplexe Erkrankung, welche noch nicht vollständig geklärt ist. So kommt es auf der Basis von genetischen Veränderungen in Kombination mit verschiedenen Umweltfaktoren zur klinischen Manifestation ²⁷.

Die Forschungsergebnisse der letzten Jahre konnten aufzeigen, dass sowohl die Barrierefunktion der Haut als auch Veränderungen des Immunsystems durch eine Polarisierung in Richtung eines T-Helfer-2 (TH2-)Reaktionstyps, eine große Rolle in der Pathogenese der AD spielen ²⁸.

Die wichtigste Aufgabe der humanen Epidermis ist es, eine effektive Barrierefunktion zu schaffen und sie zu erhalten. Diese soll einen geregelten transepidermalen Wasserverlust erlauben, gleichzeitig aber die Haut vor Austrocknung schützen. Zusätzlich soll sie eine natürliche Barriere gegen übermäßig perkutane Absorption exogener Substanzen bieten ²⁹.

Die Haut der AD-Patienten präsentiert sich oft rau, trocken und schuppig, nicht nur in läsionalen, sondern auch in nicht-läsionalen Stellen. Das Ausmaß einer Barrierestörung lässt sich u.a. durch eine Messung des transepidermalen Wasserverlustes (TEWL) quantifizieren ³⁰. Neueste Studien konnten zeigen, dass Loss-of-function-Mutationen des Filaggrin-Gens, die der Ichtyosis vulgaris zugrunde liegen, auch bei einem Teil der Patienten mit AD vorliegen. Filaggrin ist ein Schlüsselprotein in der terminalen Differenzierung der Epidermis und

notwendig für die Bildung des Keratin-Zytoskeletts³¹. Das Profilaggrin, als initiales Produkt des FLG-Gens, ist in den Keratinhyaligranula des Stratum granulosum gespeichert und im Verlauf der terminalen Differenzierung der Keratinozyten in mehrere Filaggrin-Moleküle gespalten. Die Filaggrin-Spaltprodukte wirken osmotisch und tragen zur Hydratation des Stratum corneums bei. Die Filaggrin-Peptide binden an das Keratinozytoskelett und führen zur Aggregation der Keratinfilamente und bilden hierdurch eine dichte Proteolipidmatrix. Diese Matrix schützt die Haut zum einen vor transepidermaletem Wasserverlust zum anderen vor dem Eintritt von exogenen Substanzen.

Das FLG-Gen liegt auf dem Chromosom 1q21. Durch Kopplungsanalysen und genetische Assoziationsstudien konnte diese Region mit Ekzemerkrankungen in Verbindung gebracht werden. Auch andere Mitglieder des epidermalen Differenzierungskomplexes, wie Loricrin, Involucrin, die als Vorläuferproteine für die Bestandteile des Hornmantels der Keratinozyten dienen, sowie das S-100 Protein, werden hier kodiert³².

Eine veränderte Keratinaggregation bedingt durch die Gen-Mutation, und damit durch das Fehlen von Filaggrin, führt zur Schwächung der Hautbarriere und die daraus folgenden Konsequenzen. So können Allergene und Irritantien in die Haut eindringen und eine Sensibilisierung und Entzündung auslösen, welche später eine AD triggern können. Somit wird die Ätiologie des atopischen Ekzems durch diesen Barrieredefekt erheblich beeinflusst³³. Weiterhin ist für das Gleichgewicht zwischen Proliferation und Desquamation der Epidermis und damit auch für den Erhalt der Barrierefunktion der Haut die Regulation des Abbaus der Korneodesmosomen entscheidend. Werden diese spezialisierten Desmosomen vorzeitig durch Proteasen aufgespalten, kommt es zu vermehrten Abschilferungen der oberen Zellschicht und damit zu einer Verschlechterung der Barrierefunktion der Epidermis³⁴.

Dieser Fall kann bei vermehrter physiologischer Aktivität der in der Haut vorkommenden Proteasen auftreten. Hier seien SCCE (Stratum Corneum tryptisches Enzym) oder die in entzündlichen Läsionen von Mastzellen freigesetzte MCC (Chymasehaltige Mastzellen) erwähnt. Polymorphismen im SCCE-Gen sind mit der AD assoziiert³⁵. Durch eine Modifikation in der Genregion kommt es bei einem Teil der AD-Patienten, zu stark erhöhter Enzymaktivität. Weitere Studien konnten zeigen, dass Polymorphismen in Genregionen, die Proteasen-Inhibitoren kodieren, ebenfalls mit AD assoziiert sind³².

1.2.2 Das Immunsystem und Defizite bei Patienten mit atopischer Dermatitis

Die Haut von Patienten mit Atopischer Dermatitis (AD) ist anfällig für Superinfektion mit bakteriellen und viralen Keimen, aber auch mit Hefepilzen. Es konnte gezeigt werden, dass bei 90 % der Patienten mit atopischer Dermatitis die Haut mit *S. aureus* besiedelt ist, während diese bei Gesunden nur in 5-30 % anzutreffen ist ³⁶.

Ebenso besteht für AD-Patienten ein hohes Risiko, virale Infektionen zu entwickeln. Daher führen bei einem Teil der AD-Patienten Infektionen mit Herpes simplex zu kutanen Generalisationen in Form von Eczema herpeticum. Diese Tendenz der mikrobiellen Übersiedlung und Infektion lässt sich nur teilweise durch eine gestörte mechanische Hautbarriere erklären. Sie spiegelt zusätzlich Schwächen auf der Ebene des angeborenen und erworbenen Immunsystems wieder.

Die dichte Besiedlung der Haut mit *S. aureus* und deren Ausmaß bei Patienten mit AD korreliert mit dem Schweregrad der Erkrankung. Es kommt zur Sensibilisierung der Bakterienträger gegen bakterielle Toxine und über die Superantigene wird die Entzündungsreaktion verstärkt, da es zur Proliferation von T-Zellen ohne kolonale Spezifität kommt. Die Bakterien und ihre Enterotoxine können auf bereits geschädigter Haut direkt eine Entzündungsreaktion auslösen. Weiterhin trägt eine herabgesetzte Defensinproduktion der Haut zur Anfälligkeit gegenüber *S. aureus*-Besiedlung und Infektion bei ³⁷.

Bei atopischen Erkrankungen gibt es ein Ungleichgewicht zwischen Th1- und Th2-vermittelten Immunantworten zugunsten der Th2-Reaktion. Hierdurch kann die antimikrobielle Th1-Antwort durch das starke Überwiegen der Th2-Reaktion reduziert werden. Überdies inhibieren die Th2-Zytokine die Freisetzung antimikrobieller Peptide ³⁸.

Als Bestandteile des angeborenen Immunsystems integrieren sich die antimikrobiellen Peptide in die Zellmembran der eindringenden Mikroorganismen, mit dem Ziel, diese zu zerstören. Des Weiteren sind sie für die Modulation der adaptiven Immunantwort verantwortlich und aktivieren so genannte „pattern recognition receptors“, wodurch sie die Neutrophilen-Chemotaxis stimulieren ³⁹.

Diese Rezeptoren reagieren auf Strukturen von Mikroorganismen und gehören ebenfalls dem angeborenen Immunsystem an. Das konstitutiv exprimierte antimikrobielle Peptid Dermicidin, welches sich nach Expression in ekkrinen Schweißdrüsen als Bestandteil des Schweißes auf der Hautoberfläche verteilt, besitzt ein breites Wirkspektrum gegen *S. aureus*, *E. coli* und *Candida-Spezies*.

In einer Untersuchung konnte im Schweiß der Patienten mit AD, insbesondere bei denjenigen, die oftmals unter bakteriellen oder viralen Superinfektionen litten, eine signifikant geringere Dermicidin-Konzentration entdeckt werden, verglichen mit dem Schweiß gesunder Kontrollen⁴⁰. Ferner konnte gezeigt werden, dass induzierbare antimikrobielle Peptide in den Hautbiopsien von AD-Patienten im Vergleich zu Psoriatikern reduziert waren. Das Überwiegen von Th2-Zytokinen im Mikromilieu der Haut führt zur Reduktion dieser Peptide. So werden die antimikrobiellen Peptide durch das Th2-Zytokin IL-10 blockiert³⁹.

Ein weiterer für die Pathogenese der AD wichtiger Bestandteil des angeborenen Immunsystems, sind die antigenpräsentierenden dendritischen Zellen (DZ). Bei AD-Patienten zeigte sich auf diesen Zellen eine starke Hochregulierung des hochaffinen IgE-Rezeptors (FcεRI).

Im biphasischen Verlauf der AD prägen Langerhans-Zellen (LZ) in der Initialphase über die IgE-Rezeptor-gekoppelte Allergenaufnahme eine Immunantwort vom Th2-Typ, die charakteristisch für die akute AD ist. Zudem sind sie nach der Allergenstimulation für die Freisetzung chemotaktischer Signale verantwortlich und rekrutieren so Entzündungszellen wie die inflammatorischen dendritischen epidermalen Zellen (IDEC) aus dem Blut in die Haut⁴¹. Die IDEC selbst amplifizieren die allergische Entzündungsreaktion in der Haut über die Freisetzung von pro-inflammatorischen Mediatoren nach Allergenkontakt. Die Akutphase ist Th2-getragen und zeichnet sich u. a. durch einen erhöhten IL-4, IL-5 und IL-13 Spiegel in läsionaler und nicht-läsionaler Haut aus. Diese Phase wird im weiteren Verlauf von einer Immunantwort vom Th1-Typ abgelöst. Dieser Wechsel von initial Th2 dominierender Immunantwort zu einer Immunantwort von Th1-Typ, liegt der Chronifizierung des atopischen Ekzems zugrunde.

1.3 Erysipel

Als Kontrast zu den chronisch entzündlichen Hauterkrankungen wurden das Erysipel und der Herpes Zoster als Beispiel infektiös entzündlicher Hauterkrankungen untersucht.

Erysipel (Wundrose) ist eine bakterielle Infektion der Dermis durch β -hämolyisierenden Streptokokken. Diese Hauterkrankung ist in der Regel eine nicht eitrige, ödematöse Entzündung des oberflächlichen und tiefen Lymphnetzes der Haut, einhergehend mit Fieber und Schüttelfrost.

Neben einem reduzierten Allgemeinzustand gehören weiterhin zu den weiteren charakteristischen Merkmalen lokale Entzündungszeichen wie Erwärmung, Schmerzen, Schwellung und Rötung des betroffenen Hautareals. Typisch für das Erysipel ist eine sich rasch ausbreitende, hochrote, abgestufte, flammenförmige und scharf begrenzte Hautrötung. In manchen Fällen kommt es zur Blasenbildung oder zur Einblutung (bullöses Erysipel/ hämorrhagisches Erysipel). Die Eintrittspforte für die Erreger bietet häufig ein Epitheldefekt wie eine Wunde, eine Rhagade oder Fußpilz. Patienten mit Ödemen sind stärker gefährdet, an einem Erysipel zu erkranken, insbesondere bei vorbestehendem Lymphgefäßschaden. Das bullöse oder bullös-hämorrhagische Erysipel wird meist stationär mit einer hoch dosierten intravenös antibiotischen Therapie behandelt, da das Erysipel zu Rezidiven neigt. Auch bei schwerem Verlauf (herabgesetztes Allgemeinbefinden, hohes Fieber) erfolgt eine intravenöse Infusionstherapie. Leichtere Formen können oral antibiotisch therapiert werden.

1.4 Zoster

Der Herpes Zoster (Gürtelrose) ist eine neurokutane Infektion, welche durch das zur Familie der Herpesviren gehörende Varizella Zoster Virus (VZV) hervorgerufen wird.

Nach einer primären Varizelleninfektion, meist im Kindesalter entweder in klinisch manifester Form von Windpocken oder in Form einer stillen Feiung, kommt es zu einer Reaktivierung der in den sensorischen Spinal- und Hirnnervenganglien lebenslang persistierenden Varizella Zoster Viren.

Immunologische Faktoren sind für die Aufrechterhaltung der Latenz entscheidend. Hier nimmt die zellvermittelte Immunität eine zentrale Rolle ein, die durch die hohe Zosterrate bei Patienten mit gestörter T-Zellfunktion wie bei malignen Lymphomen, immunsuppressiver Therapie oder HIV-Infektion belegt wird. Für die erhöhte Zostermorbidität im Alter ist die altersbedingte Abnahme der zellvermittelten Immunität verantwortlich.

Die Zosterinzidenz abhängig vom Lebensalter und der Abwehrlage des Immunsystems liegt im Durchschnitt bei 2-5/ 1000 Personen/ Jahr. Ab dem 50. Lebensjahr kommt es parallel zur abnehmenden VZV-spezifischen Immunität zu einem deutlichen Anstieg. Bei den Menschen, die das 85. Lebensjahr erreichen, liegt die Wahrscheinlichkeit an einem Zoster zu erkranken, bei 50%.

Der Erkrankung geht eine zwei bis fünf Tage dauernde Prodromalphase mit leichten, uncharakteristischen Allgemeinsymptomen voraus. Kennzeichnend sind brennende Schmerzen oder Sensibilitätsstörungen im Bereich von einem bis drei benachbarten Dermatomen. Zostertypische Hauteffloreszenzen werden von einseitigen radikulären Schmerzen begleitet. Es zeigt sich im betroffenen Areal ein Erythem, gefolgt von charakteristisch gruppiert stehenden Bläschen. Die Bläschenbildung hält ein bis fünf Tage an. Diese trocknen binnen sieben bis zwölf Tagen aus und der Zoster ist dann bei immungesunden Menschen nach zwei bis vier Wochen abgeheilt. Mit dem fortschreitenden Alter werden häufiger kraniale Dermatome und am häufigsten der erste Trigeminusast befallen ⁴².

Die Dauer und Schwere der Zostererkrankung sowie das Risiko für postzosterische Neuralgien kann durch eine frühzeitige antivirale Therapie erheblich reduziert werden.

1.5 Antimikrobielle Peptide

Makroorganismen wie Pflanzen, wirbellose Tiere und Vertebraten müssen in einer von potenziell pathogenen Mikroorganismen beladenen Umwelt überleben, die eine Lebensgefahr für die Vielzeller darstellt.

Alle Makroorganismen entwickeln verschiedene Strategien, um eine Infektion zu verhindern. Die Epithelien der Vielzeller, die sie wie eine schützende Hülle umgeben und sie vor der Außenwelt abschirmen, bilden die erste Barriere gegenüber eindringenden Mikroorganismen. Beim Menschen bildet die Haut die äußerste Barriere des Körpers zur Umwelt. Diese ist permanent einer Vielzahl von potenziell pathogenen Mikroorganismen ausgesetzt. Abgesehen von der „residenten Flora“, die ständig auf der Haut anzutreffen ist, gibt es die Keime der „transienten Flora“, die nur als passager auf der Haut nachweisbar sind. Zu den Hauptvertretern der „residenten Flora“ gehören Staphylokokken, Mikrokokken und Corynebakterien, die je nach Körperlokalisation in relativ stabiler Anzahl und Zusammensetzung vorkommen ⁴³. Die Hautoberfläche wird permanent von nahezu 10^2 - 10^7 Mikroorganismen/ cm^2 besiedelt. In Bezug auf die Verdopplungszeit von durchschnittlich 20 Minuten, die einige Bakterien unter bestmöglichen Wachstumsbedingungen auszeichnet, kommt es dennoch beim gesunden Menschen nicht zu übermäßiger Besiedlung bestimmter

Körperregionen durch pathogene Keime wie Bakterien, Pilze und Viren und auch nur selten zu Hautinfektionen.

Ein Eindringen der Mikroorganismen in die lebende Epidermis wird durch eine intakte physikalische Barriere, eine Lipidbarriere aus langkettigen Fettsäuren und durch den niedrigen pH-Wert oder durch freie Fettsäuren verhindert. In neueren Untersuchungen konnte jedoch nachgewiesen werden, dass die o.g. Faktoren, in ihrer Bedeutung für die natürliche Resistenz der Haut überschätzt wurden.

Die Wirbeltiere sowie der Mensch besitzen neben der epithelialen physikalischen Barriere noch weitere Systeme zur Abwehr von Infektionen, die auf dem Zusammenspiel mehrerer spezialisierter Effektorzellen basiert. Grob können das angeborene und das adaptive Immunsystem unterschieden werden.

In zahlreiche Studien der letzten Jahre konnte die Bedeutung eines biochemischen Abwehrsystems für den Erhalt der Integrität der Epithelien aufgezeigt werden ⁴⁴. Schon 1922 wies der schottische Bakteriologe Alexander Flemming in menschlichem Nasensekret ein Protein mit antimikrobieller Aktivität nach, das als Lysozym identifiziert wurde ⁴⁵. Dieses Protein hat die Eigenschaft, als Muramidase die Zellwand von Bakterien zu zerstören. Alexander Flemming entdeckte 1928 das Antibiotikum Penicillin, das 1941 industriell hergestellt wurde. Zu dieser Zeit wurden Antibiotika als Sekundärmetabolite aus Bakterien und Pilzen gewonnen und erst später wurden Peptidantibiotika bzw. antimikrobielle Peptide (AMP) in höheren Organismen aufgefunden.

Die AMP, eine Klasse körpereigener Antibiotika, sind im Pflanzen- und Tierreich weit verbreitet und besitzen als Effektormoleküle des natürlichen Abwehrsystems ⁴⁶ eine Kontrollfunktion über das Wachstum von Mikroorganismen. Hierbei kommt insbesondere antimikrobiell wirksamen Proteinen, als phylogenetisch „alte“ Effektormoleküle, eine Schlüsselrolle in der angeborenen Immunität („innate Immunity“) von Epithelien zu ⁴⁷.

Antimikrobielle Peptide werden vorwiegend als kleinere, kationische Polypeptide beschrieben, die die Eigenschaft besitzen, das Wachstum von Mikroorganismen zu inhibieren. Als wichtiger Bestandteil der angeborenen Immunität sind antimikrobielle Proteine in der Lage, ein breites Spektrum an Bakterien, Pilzen und Viren abzutöten. Ferner verändern diese Proteine die lokale Entzündungsreaktion und aktivieren Mechanismen der zellulären und adaptiven Immunität ⁴⁸.

Die AMP werden in verschiedenen Zelltypen gebildet, insbesondere in Abwehrzellen wie Makrophagen, neutrophilen Granulozyten sowie Epithelzellen von Säugetieren (Cathelicidine, Histatine, Säugetier- Defensine). Auch bei Insekten (Cecropine, Ceratoxine,

Mellitine und Insekten-Defensine), Amphibien (Bombinin, Tigerinine und Magainin) und Pflanzen (Thionine, Pflanzen-Defensine) tragen AMP zur Abwehr gegen Mikroorganismen bei ⁴⁷. Da bei einer Infektion die AMP sehr schnell aktiviert werden, bieten sie als effizientes Abwehrsystem eine Schutzbarriere gegen eine Vielzahl von Eindringlingen wie Bakterien, Pilze, Protozoen, Viren und Nematoden ⁴⁹.

Die Sezernierung von AMP kann sowohl konstitutiv erfolgen, um einen vorbeugenden Schutz gegen Infektionen zu bieten, als auch durch Bakterien, bzw. deren Produkte (z. B. Lipopolysaccharide, LPS) induziert werden ⁵⁰. Die AMP verfügen nicht nur über die Eigenschaft, Mikroorganismen abzutöten, sondern üben noch weitere Funktionen aus. Zu diesen gehört die Fähigkeit, die Zellproliferation ⁵¹, die extrazelluläre Matrixproduktion sowie die Wundheilung ⁵², die Angiogenese und die zelluläre Immunantwort zu beeinflussen ⁵³.

1.5.1 Antimikrobielle Peptide der gesunden menschlichen Haut

Die menschliche Haut steht als Grenzfläche ständig in Kontakt mit der lebenden Umwelt. Sie ist permanent verschiedensten Mikroorganismen ausgesetzt und es kommt selten zur Infektion mit pathogenen Mikroorganismen ⁵⁴. Antimikrobielle Peptide werden in der menschlichen Haut überwiegend von Keratinozyten, Schweißdrüsen und neutrophilen Granulozyten produziert ⁵⁵.

Seit seiner Beschreibung im Jahre 1922 durch A. Fleming wurde Lysozym in vielen Körperflüssigkeiten und Geweben nachgewiesen (in Nasensekret, Tränenflüssigkeit, Speichel, Muttermilch, Urin, Granulozyten, Plazenta, Milz und Lunge). In den Befunden von *Chen et al.* konnte aufgezeigt werden, dass menschliche Keratinozyten Lysozym konstitutiv produzieren ⁵⁶.

Wegen seiner Muraminidaseaktivität wird Lysozym als ein primär gegen grampositive Bakterien gerichtetes antimikrobielles Protein beschrieben ⁵⁷.

Neben den Befunden von *Chen et al.* 1986 konnte auch gezeigt werden, dass die Keratinozyten der gesunden menschlichen Haut, den Proteaseinhibitor Antileukoprotease (ALP) exprimieren ⁵⁸. Neben der antiprotease Aktivität beeinflusst ALP die epidermale Differenzierung und zeigt gegen grampositive und gramnegative Bakterien als auch gegen Hefen antimikrobielle Wirksamkeit auf ⁵⁸. Die sekretorische Phospholipase A₂, welche ursprünglich als dominierender staphylozider Faktor aus der Tränenflüssigkeit isoliert wurde,

weist ebenfalls eine antimikrobielle Wirkung gegen grampositive Bakterien auf. Auch dieses antimikrobielle Peptid wird von Keratinozyten konstitutiv generiert ⁵⁹.

Dermicidin (DCD-1), ein weiteres antimikrobielles Peptid, wird konstitutiv als Vorläufer-Protein von den Schweißdrüsenzellen der Haut produziert und gelangt mit dem Schweiß an die Oberfläche der Haut. Die antimikrobielle Aktivität ist bei physiologischer Salzkonzentration über einen breiten pH-Bereich gegen verschiedene grampositive und -negative Bakterien und Pilze sowie z. B. dem Hefepilz *Candida albicans* wirksam ⁶⁰.

Beim Menschen sind bisher sechs α - und vier β -Defensine beschrieben worden ⁶⁰. Die α -Defensine des Menschen werden überwiegend in den primären Granula neutrophiler Granulozyten synthetisiert, die in infizierten Geweben akkumulieren ⁶¹. Die epithelialen Granulozyten des Dünndarms (Paneth-Zellen) produzieren insbesondere Lysozym und zwei den α -Defensinen der Phagozyten strukturell nahestehende humane Defensine HNP-5 und HNP-6 ⁶². Diese sind an der Inaktivierung von Erregern durch Phagozytose beteiligt ⁶³.

Die vier bisher bekannten humanen β -Defensine hBD-1 ⁶⁴, hBD-2 ⁵⁰, hBD-3 ⁶⁵ und hBD-4 ⁶⁶ werden vor allem in epithelialen Geweben der Haut, der Atemwege, des Urogenitaltrakts und des Gastrointestinaltrakts gebildet ⁶⁷. Beta-Defensine sind sowohl antibakteriell als auch antimykotisch aktiv.

Das erste humane β -Defensin (hBD-1) wurde 1995 zunächst aus dem Plasma von dialysepflichtigen Patienten isoliert ⁶⁴. HBD-1 wird primär von den Epithelien des Urogenitaltraktes, der Niere und in geringen Mengen in der Haut exprimiert und kann in den Urin sezerniert werden. Auch in den suprabasalen Keratinozyten und Schweißdrüsen der Haut konnte eine mRNA-Expression von hBD-1 nachgewiesen werden ⁶⁸.

Zu den wichtigsten induzierbaren AMPs in der Haut des Menschen gehören die β -Defensine hBD-2 und hBD-4 ⁶⁹. HBD-1 und hBD-2 zeigen eine hohe antimikrobielle Aktivität gegen gramnegative Bakterien wie *E. coli* und besonders *P. aeruginosa*, jedoch eine geringere auf grampositive Erreger wie *S. aureus* ⁷⁰.

Das humane β -Defensin hBD-3 wurde aus psoriatischer Haut isoliert. Gebildet wird es nach Induktion in Keratinozyten und Lungenepithelzellen ⁶⁵. Das breite antimikrobielle Spektrum von hBD-3 und hBD-4 ist gegen grampositive und gramnegative Bakterien gerichtet, wobei hBD-3 in ihrer antimikrobiellen Aktivität eine starke Abhängigkeit von der Salzkonzentration aufweist ⁶⁵.

Eine weitere Familie antimikrobieller Peptide sind die sog. Cathelicidine. Der Name dieses Moleküls ist aus dem Begriff „Cathelin-artiges bakterizides Protein“ entstanden, das aus 37 Aminosäuren aufgebaut ist und mit zwei Leucin-Resten (LL) am Amino-Terminus beginnt.

Der Mensch besitzt nur ein Mitglied dieser Genfamilie, das sog. CAP-18/LL-37. Dieses Peptid, welches in großen Mengen aus neutrophilen Granulozyten isoliert wurde, stellt ein C-terminales Fragment einer antimikrobiell nicht aktiven „Präproteins“ des humanen CAP-18 (hCAP-18) dar ⁷¹. Das Peptid wird nach der Aktivierung der Neutrophilen durch Proteinase 3 und Abspaltung von LL-37 von der Cathelin-Domäne aktiv und kann eine Vielzahl von Bakterien abtöten ⁷¹. In humaner Wund- und Blasenflüssigkeit ⁷² und bei entzündlichen Hauterkrankungen wie z. B. der Psoriasis ist die Expression von LL-37 in Keratinozyten nachgewiesen worden ⁷³.

Ein weiteres wichtiges AMP, namens Psoriasin (S100 A7), konnte aus Stratum corneum-Extrakten der Haut isoliert werden. Dieses 11 kD große Protein gehört zur Familie der Kalzium-bindenden S100-Proteine ⁷⁴. Es wird vermehrt durch *E.coli* in den Keratinozyten exprimiert. Dieses zeigt schon in geringen Konzentrationen eine spezifische Aktivität gegen verschiedene *E.coli*-Stämme auf. Höhere Konzentrationen von Psoriasin weisen eine bakterielle Aktivität gegen *P. aeruginosa* und *S. aureus* auf. Das ursprünglich aus Keratinozyten der psoriatischen Haut isolierte Psoriasin ist in der Haut in hohen Konzentrationen exprimiert und wird durch inflammatorische Zytokine oder bakterielle Verbindungen hochreguliert. Die antimikrobielle Aktivität von Psoriasin wird gemessen an der Fähigkeit, Zn^{2+} -Ionen, die für die Bakterien lebenswichtig sind, zu binden bzw. sie ihnen zu entziehen ⁷⁴. Des Weiteren konnte die Funktion von Psoriasin als ein wirksamer T-Zell- und neutrophil-chemotaktischer Erreger aufgezeigt werden ⁷⁵.

Darüber hinaus ist die gesunde Haut des Menschen in der Lage, ein antimikrobielles Protein mit RNase-Aktivität zu produzieren. Diese antimikrobiellen Peptide sind Mitglieder der Ribonuklease (RNase) A Superfamily und sind charakterisiert durch ihre Homologie mit der bovinen Ribonuklease A. Sie teilen sich alle eine Struktur aus acht bis sechs Cysteinen, die durch Disulfid-Bindungen miteinander gekoppelt sind, zwei Histidin- und ein Lysin-Baustein, welche die katalytische Eigenschaft prägen. Zurzeit sind acht bei Menschen vorkommende Mitglieder der (RNase 1-8) der RNase A Superfamily beschrieben. Ferner sind fünf zusätzliche Gene im menschlichen Genom mit der RNase A Ribonuklease verwandt und indentifiziert (RNase 9-13).

Ein bekanntes Merkmal der Ribonuklease ist die Fähigkeit, RNA abzubauen, was für die physiologischen Funktionen wie antivirale oder angiogenetische Aktivität verantwortlich ist. Des Weiteren spielen sie eine Rolle beim Abbau der körpereigenen RNA ⁷⁶.

2002 wurden Untersuchungen an Stratum-corneum-Extrakten hautgesunder Probanden hinsichtlich antimikrobieller Faktoren durchgeführt, die zu der Entdeckung von „RNase 7“ führten⁷⁷.

RNase 7 hat in der Sequenz Ähnlichkeit mit den Mitgliedern der humanen RNase A Superfamily, unter ihnen, RNase 2 [Eosinophil-Derived Neurotoxin (EDN)], RNase 3 [Eosin-Cationic Protein (ECP)] und RNase 5 (Angiogenin)¹⁴. Die antibakteriell aktive RNase ECP kommt in eosinophilen und neutrophilen Granulozyten vor und offenbar nicht in den epithelialen Zellen. Im Unterschied dazu kommt RNase 7 in vielen Zellen epithelialen Ursprungs vor, einschließlich der Trachea, der Tonsillen, der Pharynx, der Zunge, der Schweißdrüsen sowie in den Zellen der Niere und des Thymus⁷⁷.

Im Gegensatz zu den induzierbaren β -Defensinen ist RNase 7 in der gesunden Haut vorhanden und wurde als eines der hauptsächlich kationischen Proteine der gesunden menschlichen Haut identifiziert⁷⁷.

Es ist bisher nicht bekannt, ob Leukozyten RNase 7 produzieren, doch weder Neutrophile noch Monozyten enthalten die RNase 7 Transkripte. RNase 7 wurde ursprünglich aus den menschlichen Hautschuppenextrakten gewonnen und von Keratinozyten erzeugt⁷⁷. Zhang *et al.* konnten RNase 7 bei einer genetischen Datenbanksuche identifizieren⁷⁸.

RNase 7 wird in Keratinozyten und respiratorischen Epithelien exprimiert. Es zeigt neben seiner Ribonuklease-Aktivität eine breite antimikrobielle Aktivität gegen eine Vielzahl von pathogenen Erregern, wie *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *Propionibacterium acnes* und *C. albicans* auf und kann Vancomycin-resistente Enterokokken (*E. faecium*) effektiv abtöten⁷⁷.

Sie ist bereits in nanomolaren Konzentrationen aktiv gegen Bakterien (einschließlich multiresistenter Stämme) und Pilze. Diese hohe antimikrobielle Aktivität zeigt die Bedeutung der RNase 7 in der kutanen Abwehr auf. Diese Hypothese wird unterstützt durch die Tatsache, dass die RNase 7 Expression in den Keratinozyten durch Bakterien zusätzlich induziert wird⁷⁶.

Weiterhin konnte durch die Verwendung eines löslichen RNase-Inhibitors die RNase-Aktivität blockiert werden und damit nachgewiesen werden, dass die RNase-Aktivität von RNase 7 und RNase 3 für die antimikrobielle Aktivität nicht notwendig ist^{77, 14}.

Neben der konstitutiven Expression kann RNase 7 durch Stimulation mit interleukin-1, Interferon- γ und Bakterienkontakt in Epithelzellen induziert werden.

1.5.2 Antimikrobielle Peptide bei chronischen Hauterkrankungen

Die atopische Dermatitis ist eine chronisch-entzündliche Hauterkrankung, die oft mit wiederkehrenden bakteriellen und viralen Infektionen assoziiert ist ⁷⁹. In der Haut von AD-Patienten findet man eine gesteigerte Anzahl von Th2-Zellen, die zu einer Überexpression der Th2-Zytokine IL-4, IL-10, IL-13 führen ⁸⁰. Es konnte gezeigt werden, dass IL-4 und IL-13 die Zytokin-vermittelte Induktion von hBD-2 und hBD-3 in Keratinozyten unterdrücken ^{37; 80}. Das Fehlen der Hauptinduktoren der AMP, IL-1 β oder IL-22, könnte zusätzlich zur reduzierten Expression von AMP in der Haut von Atopikern führen. Die induzierbaren AMP LL-37, hBD-2 und hBD-3 sind in signifikant geringeren Mengen in der läsionalen atopischen Haut exprimiert im Vergleich zu der läsionalen Psoriasis-Haut ⁸¹. Die Neutralisation von Th2-Zytokinen führt zu gesteigerter Expression von LL-37, hBD-2 und hBD-3 ⁸². Dies zeigt, dass die reduzierte Expression der AMP bei der AD kein konstitutiver, sondern ein erworbener Defekt aufgrund der gesteigerten Expression von Th2-Zytokinen ist. Weiterhin haben Patienten mit AD eine reduzierte Menge an Dermicidin in den Schweißdrüsen, was ebenfalls die Anfälligkeit der Haut für Infektionen erhöht und auch die Kolonisation mit Mikroorganismen in nicht-läsionaler Haut beeinflusst.

Im Kontrast zu den oben erwähnten Studien zeigen Daten einer aktuellen Studie jedoch, dass im Vergleich zu Normalkontrollen verschiedene AMP bei AD sogar verstärkt exprimiert werden.

Gambichler et al. untersucht die mRNA-Expression der AMP bei AD und konnte eine verstärkte Expression von hBD-1, -2, -3, Psoriasin und RNase 7 nachweisen ⁸³.

In psoriatischer Haut sind nahezu alle bekannten kutanen AMP hochreguliert. Die meisten AMP werden durch Keratinozyten produziert und wurden daher zuerst in den Schuppen der Psoriasis identifiziert. Die psoriatische Haut bietet eine besonders reichhaltige Quelle für antimikrobielle Peptide. In der psoriatischen Haut sind die β -Defensine, hBD-2 und hBD-3 sowie LL-37, ALP/ SLP, RNase 7, Psoriasin und Lysozym hochreguliert. Die hohen Mengen an AMP in der psoriatischen Haut sowie ihre überlappenden und synergetischen Wirkungen sind Hauptfaktoren für die geringe Anfälligkeit psoriatischer Haut gegenüber bakteriellen Infektionen ⁸⁴. Möglicherweise ist die gesteigerte Menge proinflammatorischer Zytokine wie TNF- α , IL-1 β , IL-6 und INF- α für die erhöhte Expression antimikrobieller Peptide in psoriatischer Haut von großer Bedeutung, obwohl der genaue Mechanismus für diese noch

nicht vollständig aufgeklärt ist. Interessanterweise konnte vor Kurzem eine Assoziation zwischen dem Psoriasisrisiko und einer gesteigerten genetischen Kopieranzahl von β -Defensinen hergestellt werden ⁸⁵. Weiterhin konnte in der Psoriasis Interferon- α nachgewiesen werden, das lokal von den plasmazytoiden dendritischen Zellen (pDCs) produziert wird ⁸⁶. Auch konnte gezeigt werden, dass überexprimiertes LL-37 eine Schlüsselrolle in der durch pDCs vermittelte Aktivierung in der Psoriasis spielt ⁸⁷.

LL-37 kann DNA binden, die aus den abgestorbenen Zellen der psoriatischen Haut freigesetzt wird. Der entstehende Komplex wird den pDCs übergeben, triggert TLR 9 und induziert die IFN- α Produktion. Dieses zeigt die grundlegende Rolle der AMP, die die angeborene Immunantwort gegenüber der eigenen DNA übergehen. Hier kommt die Vermutung auf, dass dieser Weg zu Autoimmunität der Psoriasis führen müsste ⁸⁷.

In läsionalem und periläsionalem Epithel von Patienten mit *Akne vulgaris* konnte eine Hochregulierung von hBD-1 und hBD-2 sowie proinflammatorische Zytokine beobachtet werden ⁸⁸. *Propionibacterium acnes* scheint eine wichtige Rolle in der Induktion der hBD-2 Expression in Keratinozyten und Sebozyten zu spielen ⁸⁹.

Einige antimikrobielle Peptide wie β -Defesine ⁹⁰, LL-37 ⁹¹ und Psoriasin ⁷⁴ sind nicht nur in Keratinozyten, sondern auch in Sebozyten exprimiert und sind in der Lage *P. acnes* abzutöten.

Bei der oberflächlichen Follikulitis, einer rezidivierenden Hauterkrankung, charakterisiert durch Entzündung der Haarfollikel und eine Infektion durch *S. aureus*, ist die Expression von hBD-2 und α -Defensinen hochreguliert ⁸⁹. Weiterhin ist die Induktion von LL-37 bei Lupus erythematodes und der Kontaktdermatitis aufgezeigt ⁷³. Diese Aufdeckungen führen zu der Schlussfolgerung, dass Talgdrüsen und Haarfollikel mit der Freisetzung von verschiedenen antimikrobiellen Molekülen zu der Abwehr von Hautoberfläche beitragen.

Während der Wundheilung ist die Produktion verschiedener AMP hochreguliert, die zur Eliminierung von Infektionen und zur verbesserten Gewebeheilung führen. LL-37 wird in großen Mengen, nach Verletzungen in der Haut, produziert und ist sehr stark exprimiert im Epithel der heilenden Haut ⁹².

In nicht heilenden chronischen Ulcera konnte eine verminderte Menge von LL-37 in der Haut nachgewiesen werden ⁹³. Die geringe Expression der AMP wird als Hauptfaktor für das Nichtverschließen der Wunden und für die Anfälligkeit für den Befall mit verschiedenen pathogenen Bakterien angesehen.

RNase 7 konnte bei den chronisch entzündlichen Erkrankungen wie Psoriasis und Neurodermitis signifikant erhöht nachgewiesen werden. Für andere chronische Hauterkrankungen liegt für RNase 7 noch kein Nachweis vor.

1.6 Fragestellung

Die Haut des Menschen ist als die äußerste Barriere zur Umwelt von einer Vielzahl von Mikroorganismen besiedelt. Obwohl die menschliche Haut permanent mit potenziell pathogenen Mikroorganismen in Kontakt steht, kommt es überraschenderweise nur selten zur Infektion. Dieses Phänomen wird damit erläutert, dass die Haut neben der „physikalischen Barriere“ über ein „chemisches Abwehrsystem“ verfügt. Dieses System besteht aus Peptidantibiotika, die konstitutiv produziert oder durch Kontakt mit pathogenen Mikroorganismen induziert werden können. Somit produziert die gesunde Haut des Menschen antimikrobielle Peptide, die gegen verschiedene Erreger gerichtet sind. Untersuchungen von Stratum-corneum-Extrakten gesunder und entzündeter Haut von Probanden führten zur Entdeckung der „RNase 7“⁷⁷. Dieses antimikrobielle Protein wirkt gegen ein breites Spektrum von Mikroorganismen und ist besonders wirksam gegen Vancomycin-resistente *Enterococcus faecium*.

Patienten mit einer Psoriasis erleiden weniger Infektionen als erwartet. Hohe Konzentrationen antimikrobieller Peptide sind in Extrakten läsionaler Schuppen von Psoriasispatienten nachweisbar. Dieser Befund unterstützt die Vermutung, dass Patienten mit Psoriasis eine außerordentlich hohe „chemische Hautbarriere“ besitzen, weshalb sie selten an Hautinfektionen leiden. Geringere Konzentrationen oder das Fehlen von antimikrobiellen Peptiden auf der Haut könnten für eine erhöhte Infektanfälligkeit verantwortlich gemacht werden, wie sie wiederum bei atopischer Dermatitis charakteristisch sind.

Zunächst soll der Frage nachgegangen werden, ob RNase 7 prinzipiell im peripheren Blut nachzuweisen ist. Aufgrund der bereits bekannten Bedeutung antimikrobieller Peptide bei Psoriasispatienten wird in dieser Arbeit untersucht, ob RNase 7 im Blut von Patienten nachzuweisen ist.

Das Serum von Patienten mit Psoriasis sowie Patienten mit atopischer Dermatitis wurde auf RNase 7 untersucht und mit dem Serum von Normalkontrollen verglichen.

Zudem wurde bei den Patientengruppen analysiert, ob der Nachweis bzw. die Konzentrationen von RNase 7 von krankheitsspezifischen Faktoren, z. B. der Schwere abhängig sind. Hier war insbesondere die mögliche Eignung des RNase 7 Nachweises im Serum als möglicher Marker für Therapieanspruch von Interesse.

Um die Spezifität der Ergebnisse gegenüber entzündlichen Hauterkrankungen anderer Genese zu prüfen, wurden ferner Patienten mit infektiöser Hauterkrankung wie Zoster und Erysipel in die Untersuchung einbezogen.

2. Material und Methoden

2.1 Material und Geräte

2.1.1 Geräte

Biometra OV3-Mini Hybridisations Ofen
 ELX 50 Mikroplate Strip Washer
 Kern-Waage
 Sunrise-Mikroplatten Absorptions Leser
 Thermomixer comfort
 Zentrifuge Biofuge 17RS

Biometra, Göttingen GER
 BioTek Instruments USA
 Kern & Sohn, Albstadt GER
 Tecan, Crailsheim GER
 Eppendorf, Hamburg GER
 Heraeus, Hanau GER

2.1.2 Verbrauchsmaterialien

Falcon Zentrifugenröhrchen (15ml, 50ml)
 Filter Pipettenspitzen (10µl, 100µl, 1000µl)

Sarstedt, Nümbrecht GER
 Eppendorf, Hamburg / Gilson,
 Wisconsin USA

Handschuhe Peha Soft
 Mikro Zentrifugenröhrchen
 Multi-Well-Platten

Hartmann, Heidenheim GER
 Sarstedt, Nümbrecht GER
 Nunc GmbH & Co.KG,
 Wiesbaden GER

Parafilm Verschlussfolie
 Pipetten (100-1000µl)
 Pipettenspitzen

Menosha, Wisconsin USA
 Eppendorf, Hamburg GER
 Eppendorf, Hamburg GER

Serologische Pipetten (5ml, 10ml, 25ml)

Sarstedt, Nümbrecht GER

2.1.3 Verwendete Chemikalien (Bezugsquelle)

ABTS Tabletten	Roche Diagnostics GmbH, Mannheim GER
Ameisensäure	Merck, Darmstadt
BSA (Bovine Serum Albumin)	SIGMA-Aldrich Co. München
Destilliertes Wasser	Delta Select GmbH, Dreieich
KCl	Merck, Darmstadt
KH_2PO_4	Merck, Darmstadt
Na_2CO_3	Merck, Darmstadt
Na_2HPO_4	Merck, Darmstadt
NaCl	Merck, Darmstadt
NaH_2PO_4	Merck, Darmstadt
NaHCO_3	Merck, Darmstadt
PBS (Phosphate Buffered Saline)	Bioconcept, Umkirch
Streptavidin- POD Conjugate	Roche Diagnostics GmbH, Mannheim
Tween 20	SIGMA-Aldrich Co. München

2.1.4 Puffer und Lösungen

Natriumkarbonatpuffer, 0,05 M:	<p>75,0ml einer 0,2M Na_2CO_3 175,4ml einer 0,2M NaHCO_3 pH 9,6 mit Ameisensäure (ca.100μl einer 100% Säure) ad 1000ml H_2O</p>
PBS 10x:	<p>80,0g NaCl 2,0g KCl 11,5g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$ 2,0g KH_2PO_4 ad 100ml H_2O (pH 7,2-7,4) (1:10 verdünnt eingesetzt)</p>
PBS/ BSA, 1%:	<p>200mg BSA in 20ml PBS frisch angesetzt/ Platte</p>
Verdünnungspuffer PBS/ Tween 20; 0,1 %:	<p>10fach konzentriertes PBS 100ml ad 1000ml H_2O Tween 20 1000μl</p>
Waschpuffer PBS/ Tween 20; 0,05 %:	<p>10fach konzentriertes PBS 100ml ad 1000ml H_2O Tween 20 500μl</p>
ABTS-Substrat:	<p>10fach konzentriertes ABTS–Tube 5ml ad 50ml H_2O 1 ABTS–Tablette hinzufügen</p>
Natrium-Phosphatpuffer 10mM, pH 7,2 / BSA 1%:	<p>3,16ml 1M $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times \text{H}_2\text{O}$ 6,84ml 1M Na_2HPO_4 ad 1000ml H_2O (pH 7,2-7,3) 1 % BSA zusetzen</p>

2.2 Antikörper

Durch die freundliche Leihgabe von Prof. Dr. Jürgen Harder:

Goat RNase 7 Primärantikörper bei -80° C gelagert

Goat RNase 7 Sekundärantikörper (biotinyliert) bei -80 ° C

2.3 Patienten

Patienten der Hautklinik Kiel wurden nach schriftlicher Einwilligung in die Studie einbezogen.

Zur Verlaufsuntersuchung aller Patienten erfolgten serielle Blutabnahmen während des stationären Aufenthaltes sowie ausführliche Dokumentation der Labordiagnostik und Behandlung. Die Untersuchung ist Bestandteil einer klinischen Studie, die von der Ethikkommission der medizinischen Fakultät der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel genehmigt wurde.

Zur Kontrolle und im Vergleich zu Blutseren von erkrankten Patienten wurden 70 Blutseren von gesunden Blutspendern mit einem Durchschnittsalter von 53 Jahren aus dem Institut für Transfusionsmedizin in Kiel untersucht.

2.3.1 Psoriasis-Patienten

Den Psoriasis-Patienten wurden die Blutproben jeweils am Tag der Aufnahme entnommen sowie einmal wöchentlich während des gesamten Klinikaufenthaltes unter Therapie bis zur Entlassung. Ebenfalls wurden wöchentlich parallel zur Gewinnung der Serumproben, die Leukozytenzahlen, die Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG) sowie die Konzentration des C-reaktiven Proteins (CRP) bestimmt. Einmalig wurde bei der Aufnahme ASL (Antistreptolysintiter) und ADNase (Antistreptokokken DNase B) bestimmt.

Zu den Zeitpunkten der Blutabnahmen wurde des Weiteren der PASI Score (Psoriasis Area and Severity Index) erhoben ⁹⁴.

Der Psoriasis Area and Severity Index (PASI) ist ein Skalierungssystem, in das der Ausprägungsgrad der entzündlichen Morphe und der Körperoberflächenbefall in Prozent, als zwei Größen für vier verschiedene anatomische Regionen (Kopf, Rumpf, obere Extremitäten, untere Extremitäten) eingehen.

Die Intensität von Erythem, Infiltration und Desquamation wird für jedes Symptom getrennt auf einer Bewertungsskala von 0-4 beurteilt, wobei 0 das komplette Fehlen der kutanen Beteiligung repräsentiert und 4 den stärksten Befall (0 = kein Befall, 1 = leicht, 2 = mittel, 3 = schwer, 4 = sehr schwer).

Der prozentuale Oberflächenbefall der vier anatomischen Regionen ist definiert nach:

0 = kein Befall, 1 = 1-9%, 2 = 10-29%, 3 = 30-49%, 4 = 50-69%, 5 = 70-89%, 6 = 90-100%.

Der PASI-Score errechnet sich aus der Summe der morphologischen Scores und der Ausdehnung, die lokalisationsbedingt im Verhältnis zur Gesamtoberfläche mit einem Faktor multipliziert wird.

Die Formel zur Berechnung des PASI-Scores:

$$\begin{array}{c}
 \text{Kopf} \qquad \qquad \text{Rumpf} \\
 \text{PASI} = 0.1 \times (E_K + I_K + S_K) \times A_K + 0.3 \times (E_R + I_R + S_R) \times A_R \\
 \\
 \text{Arme} \qquad \qquad \text{Beine} \\
 + 0.2 \times (E_A + I_A + S_A) \times A_A + 0.4 \times (E_B + I_B + S_B) \times A_B
 \end{array}$$

$E_{K, R, A, B}$ steht für den Wert Erythem an Kopf, Rumpf, Armen und Beinen

$I_{K, R, A, B}$ steht für den Wert Infiltration an Kopf, Rumpf, Armen und Beinen

$S_{K, R, A, B}$ steht für den Wert Schuppung an Kopf, Rumpf, Armen und Beinen

(Ausdehnung : 1 = < 10 %, 2 = 10 < 30 %, 3 = 30 < 50 %, 4 = 50 < 70 %, 5 = 70 < 90 %, 6 = 90 < 100 %)

Damit variiert der PASI zwischen dem Wert 0 und maximal 72⁹⁵.

2.3.2 Neurodermitis-Patienten

Bei den Neurodermitis-Patienten erfolgte zusätzlich am Tag der Aufnahme, die Bestimmung der eosinophilen Granulozyten sowie des IgE-Serumspiegels.

Zur Beschreibung von Ausdehnung und Schweregrad der atopischen Dermatitis wurde ein EASI-Score erhoben.

Beim EASI-Score (Eczema Area Severity Index) werden 4 unterschiedliche Lokalisationen des Integuments (Kopf und Hals, Rumpf, obere Extremitäten, untere Extremität) hinsichtlich der Ausdehnung der Erkrankung und der morphologischen Kriterien Erythem, Infiltration/ Papelbildung, Exkoration und Licheninfektion (0 = nicht, 1 = wenig, 2 =mäßig, 3 = schwer) beurteilt.

Dieser Score errechnet sich aus der Summe der morphologischen Scores und der Ausdehnung, die lokalisations- und altersabhängig im Verhältnis zur Gesamtkörperoberfläche mit einem Faktor multipliziert wird.

Die Formel zur Berechnung des EASI-Scores:

$$\begin{array}{c}
 \text{Kopf} \qquad \qquad \qquad \text{Rumpf} \\
 \hline
 \text{EASI} = 0.2 \times (\text{E}_K + \text{I}_K + \text{EX}_K + \text{L}_K) \times \text{A}_K + 0.3 \times (\text{E}_R + \text{I}_R + \text{EX}_R + \text{L}_R) \times \text{A}_R \\
 \\
 \text{Arme} \qquad \qquad \qquad \text{Beine} \\
 \hline
 + 0.2 \times (\text{E}_A + \text{I}_A + \text{EX}_A + \text{L}_A) \times \text{A}_A + 0.3 \times (\text{E}_B + \text{I}_B + \text{EX}_B + \text{L}_B) \times \text{A}_B
 \end{array}$$

$\text{E}_{K, R, A, B}$ steht für den Wert Erythem an Kopf, Rumpf, Armen und Beinen

$\text{I}_{K, R, A, B}$ steht für den Wert Infiltration an Kopf, Rumpf, Armen und Beinen

$\text{EX}_{K, R, A, B}$ steht für den Wert Exkoration an Kopf, Rumpf, Armen und Beinen

$\text{L}_{K, R, A, B}$ steht für den Wert Licheninfektion an Kopf, Rumpf, Armen und Beinen

(Ausdehnung 0 = nicht befallen, 1 = 1 – 33 %, 2 = 34 – 66 %, 3 = 67 – 100 %)

Für die Statistik wurden die Krankenakten der Patienten mittels eines selbst erstellten Fragebogens nach mehreren Kriterien ausgewertet.

Aus diesen Akten wurden allgemeine Patientendaten sowie Familienanamnese, allgemeine Anamnese, spezielle Anamnese, Medikation vor der Aufnahme, Erscheinungsbild der Erkrankung, Verlauf der Erkrankung unter Medikation, Laborwerte und deren Werte im Verlauf sowie PASI- oder EASI-Score zu den verschiedenen Zeitpunkten der Blutabnahme erhoben.

2.3.3 Patienten mit anderen entzündlichen Hauterkrankungen

Als Kontrast zu chronisch-entzündlichen Hauterkrankung wurden in dieser Studie als Beispiel Patienten mit infektiös entzündlichen Hauterkrankungen wie dem Erysipel und dem Herpes Zoster herangezogen. Auch diese Patienten willigten schriftlich ein. Nach dem gleichen Schema wie bereits oben erwähnt wurden die Daten dieser Patienten gesammelt und ausgewertet.

2.4 ELISA

Um die Expression des antimikrobiellen Proteins RNase 7 in einer großen Anzahl von Patientenseren nachzuweisen, kam ein ELISA als immunologisches Testverfahren zum Einsatz.

Das Testverfahren des ELISAs erlaubt die schnelle Detektion und Quantifizierung eines Antigens (Proteine, Viren, Hormone, Toxine, Pestizide) in einer Probe (Blutserum, Milch, Urin etc.). Die Grundlage dieser Technik ist die spezifische Antigen-Antikörper-Reaktion und deren Wechselwirkung. Mit Hilfe dieses Testverfahrens können geringste Mengen an Antigen oder Antikörper mittels eines Enzym-markierten Antikörpers (Konjugat) und einer dadurch katalysierten Farbreaktion nachgewiesen werden. Die Konzentration eines Analytes wird über die Aktivitätsbestimmung eines Markerenzym durch eine Farbreaktion ermittelt.

Diese Farbreaktion wird mittels Photometer abgelesen und die Probe anhand einer Standardkurve ermittelt.

Für die vorliegende Arbeit wurde ein Sandwich-ELISA unter Verwendung von polyklonalen Ziege-Antikörpern, welche gegen natürliches RNase 7 gerichtet sind, etabliert und

standardisiert. Die Fragestellung des Versuchs und die Ausgangsmaterialien bestimmen, welche Technik angewendet wird.

Bei allen Testverfahren wird ein biologisches Molekül (Antigen oder Antikörper) an eine Matrix gebunden.

Für den Sandwich-ELISA benötigt man zwei Antikörper, die hochspezifisch an verschiedene Epitopregionen des nachzuweisenden Antigens binden. Hierbei ist es wichtig, dass die beiden Antikörper an unterschiedlichen Bereichen des Antigens in Wechselwirkung treten, um eine gegenseitige Behinderung auszuschließen. Es darf auch nur einer der Antikörper mit dem Enzym markiert sein.

Zu Beginn des Versuchs wird die für den ELISA entwickelte 96-well Mikrotiterplatte mit dem primären nicht markierten Antikörper (coating-Antikörper) beschichtet. Nachdem die Probe hinzugegeben wird, binden alle Proteine mit dem passenden Epitop an den ersten Antikörper, während alle unspezifischen Komponenten ausgewaschen werden.

Im nächsten Schritt erfolgt die Reaktion mit dem sekundären, enzymgekoppelten Antikörper, der ebenfalls spezifisch für das zu untersuchende Antigen ist. Dieser bindet dann an ein anderes Epitop des bereits gebundenen Proteins.

Das Zielprotein kann nach dieser Reaktion mittels Enzymreaktion am konjugierten Antikörper nachgewiesen und quantifiziert werden.

Drei wesentliche Faktoren können die Sensitivität eines Sandwich ELISA beeinflussen:

- 1) die Bindungskapazität der Mikrotiterplatten für Proteine
- 2) die Affinität zwischen Antigen und Antikörper
- 3) die Auswahl der Markierungen

2.5 Herstellung einer Standardreihe für ELISA-Untersuchungen

Für einen quantitativen Nachweis der Antigen-Konzentration wird eine Serie mit bereits bekannten Antigenkonzentrationen durchgeführt, um eine Kalibrierungskurve für das gemessene Signal zu erhalten.

Diese Standardreihe wird speziell für jedes Experiment frisch angesetzt und dient sowohl als eine interne Kontrolle des Experiments als auch als eine Kalibrierungskurve, an der die unbekannten Messwerte des Experiments interpoliert werden.

Zur Erstellung der Standardreihe wird eine Stammlösung benötigt, die folgendermaßen hergestellt wird:

Herstellung einer Stammlösung (1 µg/ml RNase 7 in NaPP/1% BSA):

1 µl RNase 7 Antigen (1 µg/ml) in 999 µl NaPP/1% BSA resuspendieren 40 µl Stammlösung in 960 µl NaPP/ 1% BSA verdünnen: 40 ng/ml

Von dieser Verdünnung 500 µl entnehmen und weiter seriell 1:2 Verdünnungen bis zu einer Konzentration von 0,3125 ng /ml anfertigen.

Das Antigen, aus dem die Standardreihe für jedes Experiment frisch angesetzt wurde, wurde bei -80 °C gelagert. Die Lösungen wurden bei 4 °C gelagert.

2.5.1 Optimierung des Testverfahrens

Der initial im Haus etablierte Testablauf des RNase 7-ELISA wurde vor dem Einsatz für die vorliegende Arbeit standardisiert und soweit optimiert, dass eine zuverlässige Empfindlichkeit und Reproduzierbarkeit erzielt werden konnte. Alle verwendeten Lösungen (Antigen, Antikörper, Puffer) wurden in ausreichender Menge für die geplanten Untersuchungen hergestellt, getestet und in Aliquots gelagert, um reproduzierbare Ergebnisse zu erzielen. Weiterhin wurden die Inkubationszeiten streng eingehalten und ein Abstoppen der Extinktionsmessung erfolgte stets, wenn die höchste Konzentration der Standardreihe eine Extinktion von 1,000 erreichte. Für sämtliche Standard- und Serumproben erfolgten stets Dreifachmessungen.

2.6 Nachweis von RNase 7 mit dem Sandwich-ELISA

Zur Detektion und Konzentrationsbestimmung des antimikrobiellen Proteins RNase 7 in den Patientenseren wurde ein selbst entwickelter ELISA verwendet. Der Test wurde in den 96-Loch Mikrotiterplatten (Nunc-Immuno Plate Maxisorp, Nunc GmbH, Wiesbaden) mit hoher Bindungskapazität durchgeführt.

Für eine Verdünnung von 1:1200 wurden 5 µl vom primären Antikörperkonzentrat (coating-AK) in 5995 µl 0,05 M Natriumkarbonatpuffer pH 9,6 auf 50 µg/ml verdünnt.

Jede Vertiefung wurde mit 50 µl/well beschichtet und der Antikörper schüttelnd (300 Upm) bei 37 °C für 1h oder über Nacht bei 4 °C im Kühlschrank an die Festphase gebunden. Alle weiteren Inkubationsschritte erfolgten bei Raumtemperatur.

Die Blockierung freier Proteibindungsstellen auf der Mikrotiterplatte erfolgte durch das Auftragen von 200 µl/well 1%iger (w/v) boviner Serumalbumin-Lösung (BSA) in PBS. Durch

diese Reaktion kann die Entstehung einer unspezifischen Hintergrundreaktion (Background) verhindert werden.

Die Inkubation erfolgte schüttelnd (300 Upm) 10 Minuten bei Raumtemperatur.

Nach dreimaligem Waschen mit dem ELX 50 Auto Strip Washer aller Vertiefungen mit 200µl/well Waschpuffer (0,05 % Tween 20 in PBS) wurden je 50µl der zu testenden Seren sowie eine RNase 7-Konzentrationsreihe (0,3125 bis 40 ng/ml) als Standard in die 96-Loch-Mikrotiterplatte als Dreifachwerte gegeben und 30 min inkubiert. Die Vertiefungen wurden erneut jeweils dreimal gewaschen. Im nächsten Schritt wurde der Nachweis von gebundener RNase 7 mit 480ng biotinyliertem RNase 7-Antikörper (AB2) in 1% Tween 20 in PBS mit einer Verdünnung von 1:1200 durchgeführt. Nach dem Befüllen der Wells mit AB2 und der Inkubation von 30 min wurden diese erneut dreimal gewaschen. Anschließend schloss sich die Farbreaktion durch Zugabe von 1µl einer Lösung von StreptAvidin-POD (Roche Diagnostics, Mannheim) in einer Verdünnung von 1:10000 an, wobei für 30 min inkubiert wurde. Zur Entfernung von ungebundenen Enzymresten wurde sechs Mal mit 0,05% Tween 20 in PBS gespült. Die gebundene Peroxidase wurde mit 2,2'azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonsäure (ABTS, Roche Diagnostics, Mannheim) als Substrat quantifiziert. In einem Multikanal Photometer (Sunrise, Tecan, Crailsheim) konnte dann die einsetzende Färbereaktion durch die Messung der Extinktion bei 405 nm bestimmt werden.

2.6.1 Auswertung des ELISA-Tests

Die Auswertung erfolgte durch die Berechnung der vom Photometer gemessenen Extinktionswerte der Standardverdünnungsreihe.

Erreichte die Probe mit der höchsten Konzentration aus der Standardreihe (40ng/ml) eine Extinktion von 1, erfolgte die Messung der gesamten Mikrotiterplatten.

Alle Proben, die eine höhere Extinktion als den höchsten Wert aus der Standardreihe erreichten, wurden in einem zweiten Test nach Verdünnung in PBS erneut gemessen.

Die Berechnung der Standardkurve erfolgte anhand aller Werte der Standardreihe.

Aus den Mittelwerten der Dreifachbestimmung der Standardreihen wurde die polynomische Regressionsfunktion modelliert.

Mittels einer Tabellenkalkulation (Excel, Microsoft) konnten daraus die Messwerte für die Proben geschätzt werden.

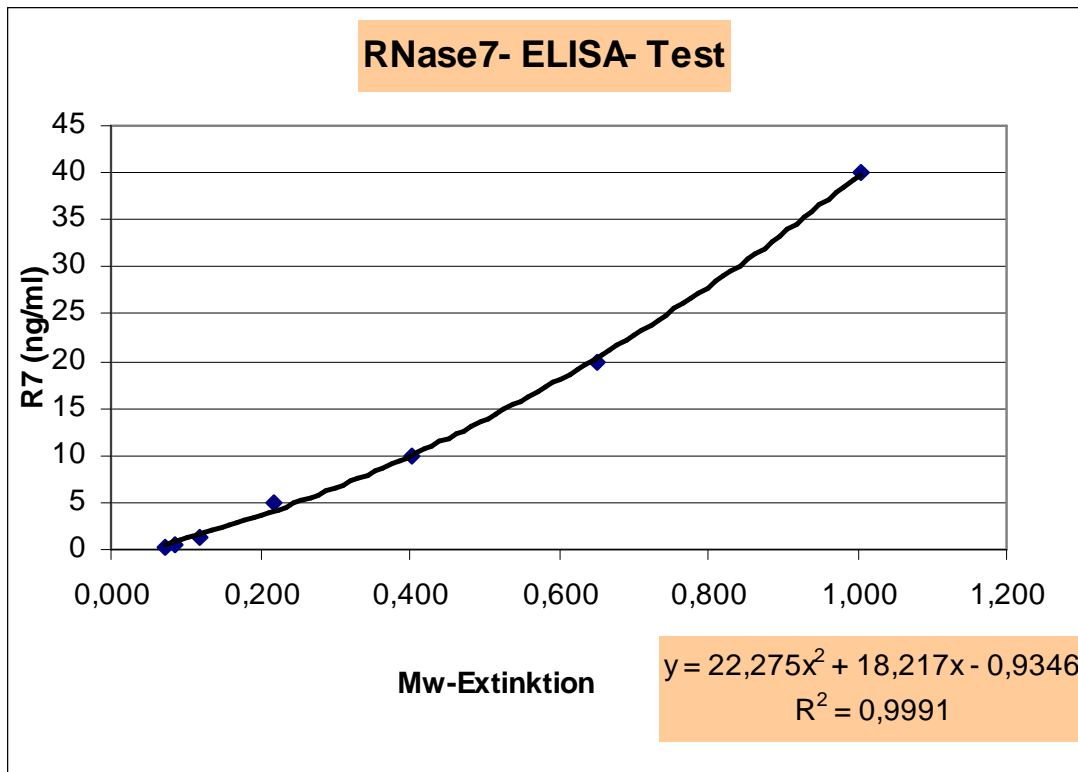


Abbildung 1.: Standardkalibrierungskurve des RNase 7-ELISAs

In Abbildung 1. ist das Diagramm einer repräsentativen Standardreihe eines RNase 7-ELISA dargestellt. Gezeigt wird die Abhängigkeit zwischen der Extinktion und der entsprechenden RNase 7-Konzentration des RNase 7-ELISAs, die durch verschiedene Verdünnungen von rekombinanter RNase 7 (0-40 ng/ml) erstellt wurde.

Auf der Y-Achse sind die Werte für die RNase 7-Konzentration (ng/ml), auf der X-Achse der entsprechende Mittelwert der Extinktionen aufgetragen.

Der Regressionskoeffizient der dargestellten Standardkurve beträgt 0,9991.

2.6.2 Statistische Analyse

Die statistischen Berechnungen wurden mit dem Softwarepaket SPSS V9.0 für Windows (SPSS, München) durchgeführt. Die deskriptive Statistik folgt Standardmethoden (Sachs 1990, Gardner 1989). Hier kamen für die Darstellung repräsentativer Zentralwerte je nach Verteilung arithmetische Mittelwerte oder Medianwerte zur Anwendung, ergänzt durch die Angabe von Standardabweichungen und/oder 95%-Vertrauensbereichen. Diese Daten wurden in Abhängigkeit vom Vorliegen normalverteilter Daten mittels t-Test oder aber U-Test (Wilcoxon-Mann-Whitney) teststatistisch verglichen. Die Darstellung kategorisierter

Merkmale in der beschreibenden Statistik geschah unter Angabe von absoluten Zahlen und Prozentsätzen. Unterschiede in den Häufigkeiten wurden anhand des Chi-Quadrat-Tests auf Signifikanzen geprüft. Für alle Tests wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $\leq 5\%$ festgelegt.

3. Ergebnisse

Die Detektion von RNase 7 im Serum soll im Folgenden zunächst bei Gesunden betrachtet werden. Es folgt der Vergleich zwischen den verschiedenen untersuchten Patientengruppen mit den Normalkontrollen und schließlich die Analyse krankheitsbezogener Faktoren, die mit einer Expression von RNase 7 im Serum assoziiert sein könnten.

3.1 Basisdemografie

Insgesamt wurden die Seren von 70 normalgesunden Personen sowie von Patienten mit Psoriasis (128), atopischer Dermatitis (26), Erysipel (10) und Zoster (11) untersucht.

Die folgende Tabelle 3.1 zeigt die demografische Zusammensetzung der einzelnen Gruppen.

TABELLE 3.1.: Altersverteilung von Männern und Frauen in den verschiedenen Gruppen

	NK	Pso	AD	Ery	Zoster
Anzahl [n] Total	70	128	26	10	11
Geschlecht					
männlich [n]	38	69	15	7	1
(%)	54,3 %	53,9 %	57,6 %	70 %	9,1 %
weiblich [n]	32	59	11	3	10
(%)	45,7 %	46,1 %	42,3 %	30 %	90,9 %
Alter [in Jahren bei der Aufnahme]					
MW	55	52	34	60	69
SD	14	17	17	23	24
Median	53	53	32	60	77
Umfang	23-83	12-85	15-80	23-88	17-89

NK= Normalkontrollen, Pso= Psoriasis, AD= atopische Dermatitis, Ery= Erysipel MW= Mittelwert, SD= Standardabweichung,

In der Tabelle 3.1 ist die Alters- und Geschlechtsverteilung der Patienten in den Gruppen Negativkontrolle, Psoriasis, atopische Dermatitis, Erysipel und Zoster dargestellt. Aus dieser Tabelle wird ersichtlich, dass die Psoriasisgruppe mit 128 Teilnehmern das größte Kollektiv unter den Gruppen bildete, gefolgt von der Gruppe Normalkontrollen mit 70 Teilnehmern, Neurodermitis (26), Zoster (11) und Erysipel (10).

In der Psoriasisgruppe waren von 128 Patienten 69 (53,9 %) männlich und 59 (46,1 %) weiblich und das Alter lag im Median bei 53 Jahren. Damit bestand kein signifikanter Unterschied zu den Normalkontrollen mit 38 (54,3 %) männlichen und 32 (45,7 %) weiblichen Probanden sowie einem mittleren Alter von ebenfalls 53 Jahren.

In der Gruppe atopische Dermatitis waren von 26 Patienten, 15 (57,6 %) männlich und 11 (42,4 %) weiblich. Hier bildeten die Patienten mit einem Median von 32 Jahren die jüngste Population, was im Vergleich zu den Normalkontrollen hochsignifikant jünger war ($p < 0,0001$).

Mit 7 (70 %) männlichen und 3 (30 %) weiblichen Patienten mit einem mittleren Alter von 60 Jahren war das Geschlechtsverhältnis in der Gruppe mit Erysipel etwas unausgewogen, jedoch war der Unterschied bezüglich Alter und Geschlecht gegenüber NK aufgrund der geringen Fallzahl nicht signifikant.

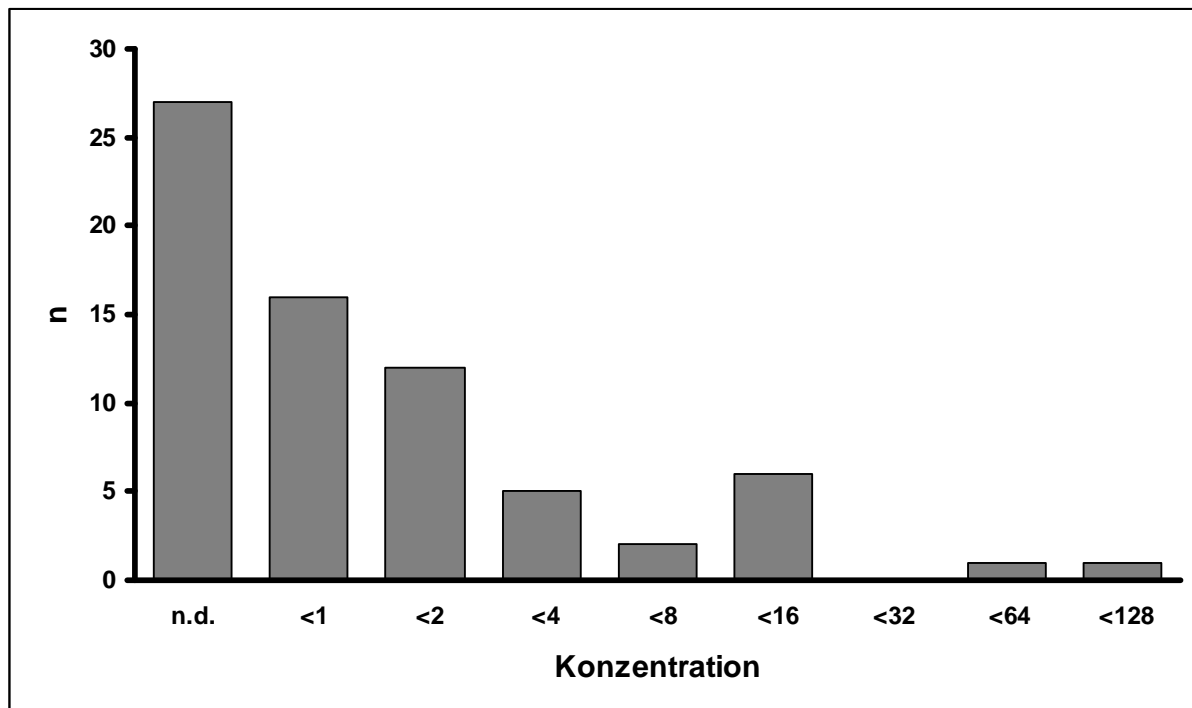
Die Gruppe Zoster, bestehend aus einem (9,1 %) männlichen Patienten und 10 (90,9 %) weiblichen Probanden, stellt eine ungleichmäßige Geschlechtsverteilung dar, bei der das Geschlecht der weiblichen Patienten signifikant ($p < 0,01$) öfter vertreten war als das männliche im Vergleich zu den Normalkontrollen.

Mit einem Alter im Median von 77 Jahren bildete diese Studiengruppe, das älteste Kollektiv unter den Gruppen und war im Vergleich zu den Normalkontrollen signifikant älter ($p < 0,01$).

3.2 Nachweis von RNase 7 bei Normalkontrollen

Wie in Tabelle 3.4 dargestellt, wurde von 70 gesunden Personen das Blutserum untersucht. Anhand eines standardisierten, optimierten und damit reproduzierbaren ELISA-Testes, konnte in dieser Studie der Nachweis vom antimikrobiellen Peptid RNase 7 im gesunden Blutserum aufgezeigt werden. Der untere messbare Bereich der RNase 7-Konzentration im Blut begann bei 0,3125 ng/ml und der obere bei > 40 ng/ml. Die obere Nachweisgrenze richtet sich nach dem höchsten Wert, der für den ELISA-Test erstellten Standardreihe. Alle Werte, die über

dem höchsten Wert der Standardreihe lagen, wurden in einem zweiten Test verdünnt und später mit dem Verdünnungsfaktor multipliziert.



n = Anzahl

Abbildung 3.2: Histogramm zur Darstellung von RNase 7 bei den Normalkontrollen

In der Darstellung in Abb. 3.2 ist eine deutliche Linksverteilung der Daten erkennbar.

Bis zu der Serumkonzentration < 8 ng/ml ist eine exponentielle Abnahme aus dem Histogramm zu entnehmen. Im Blutserum von 27 (39%) von insgesamt 70 (100%) gesunden Personen lag die Konzentration des antimikrobiellen Peptides RNase 7 unterhalb der Nachweisgrenze von 0,3125 ng/ml.

Die weiteren 50 % der Proben wiesen eine Serumkonzentration unter 8 ng/ml auf, wobei eine Häufung der Serumkonzentration zwischen 0,3- 2 ng/ml bei 18 (40 %) Proben vorlag.

In 11 (11 %) Proben konnte eine Serumkonzentration von > 8ng/ml nachgewiesen werden, von denen in 6 (9 %) Proben eine Konzentration bis <16 ng/ml detektiert wurde.

Die Konzentrationen zwischen 16-32 ng/ml konnten bei keiner Probe gemessen werden.

Besonders hoch waren die Konzentrationen bei 2 Proben (2 %), die bei < 64 und < 128 ng/ml lagen. Der Median des RNase7 liegt bei 0,68 ng/ml und damit geringfügig über der unteren Nachweisgrenze von 0,3125ng/ml.

Eine signifikante Korrelation des Geschlechtes und des Alters mit der RNase 7 Konzentration konnte nicht festgestellt werden.

3.3 RNase 7 bei Psoriasis

3.3.1 Demografische Daten der Psoriasispatienten

TABELLE 3.3.1 Demografische Daten der Psoriasispatienten

	m	w	Total
Anzahl [n]	69	59	128
Alter [in Jahren bei der Aufnahme]			
MW (SD)	48 (16)	56 (17)	52 (17)
Median	48	56	53
Umfang	18-79	12-85	12-85
Beginnalter [in Jahren]			
Median	28	36	29
Umfang	5-75	4-82	4-82
Psoriasis [n]	69	59	128
Typ I (%)	45 (35,2)	30 (23,4)	75 (58,6)
Typ II (%)	18 (14,1)	25 (19,5)	43 (33,6)
k. A (%)	6 (4,7)	4 (3,1)	10 (7,8)
PASI [in Punkten]			
MW (SD)	20,5 (11,0)	18,5 (13,5)	19,5 (12,3)
Median	17,7	17,2	17,5
Umfang	3,7-50,0	2,0-66,0	2,0-66,0
BMI			
MW (SD)	27,2 (6,6)	27,0 (5,7)	27,1 (6,2)
Median	27,2	27,0	27,1
Umfang	16,1-55,2	16,9-45,6	16,1-55,2

m= männlich, w= weiblich, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung, BMI= Body-Mass-Index, PASI = Psoriasis Area and Severity Index

In der Tabelle 3.3.1 sind die demografischen Daten der Psoriasispatienten zusammengefasst. Anzahl, Alter, BMI (Body-Mass-Index), PASI (Psoriasis Area and Severity Index).

Das Alter von den 69 männlichen und 59 weiblichen Patienten liegt im Median bei 48 bzw. 56 Jahren. Die Psoriasis setzte bei den männlichen Patienten, mit einem Beginnalter von 28

Jahren etwas frühzeitiger ein als bei den weiblichen Patienten mit 36 Jahren. Insgesamt wiesen 58,6 % der Patienten eine Typ I- und 33,6 % eine Typ II-Psoriasis auf. Hieraus lässt sich ableiten, dass fast 2/3 der Patienten unter 40 Jahren waren und damit eine Typ I-Psoriasis aufwiesen. Der BMI (Body-Mass-Index) war im Median bei beiden Geschlechtern bei 27. Der PASI-Score im Median lag bei 17,5 Punkten.

Im Hinblick auf die Vergleichbarkeit der Psoriasisgruppe mit den Normalkontrollen lässt sich aus den demografischen Daten ableiten, dass sich die Gruppen in der Alters- und Geschlechtsverteilung homogen zueinander verhalten.

In der Psoriasisgruppe konnte der RNase 7 Nachweis in 111 (86,4%) von 128 Blutseren erbracht werden. Die RNase 7 Konzentration lag im Median bei 0,9 ng/ml. Der Umfang der Konzentration bewegte sich zwischen 0,3125 und 1417,55 ng/ml.

3.4 RNase 7 bei der atopischen Dermatitis

3.4.1 Demografische Daten von Patienten mit atopischer Dermatitis

TABELLE 3.4.1 Demografische Daten der Patienten mit Atopischer Dermatitis

	m	w	Total
Anzahl [n]	15	11	26
Alter [in Jahren bei der Aufnahme]			
MW (SD)	35 (17)	32 (19)	34 (17)
Median	32	27	32
Umfang	15-77	16-80	15-80
Beginnalter [in Jahren]			
MW (SD)	1 (19)	9 (22)	5 (17)
Median	0	0	0
Umfang	0-74	0-3	0-74
EASI [in Punkten]			
MW (SD)	6,1 (3,9)	5,8 (3,7)	6,0 (3,7)
Median	4,2	7,2	5,5
Umfang	1,1-13,2	0,1-10,5	0,1-13,2

m=männlich, w= weiblich, MW= Mittelwert, SD= Standardabweichung, EASI-Score= Eczema Area Severity Index

In der Tabelle 3.4.1 sind die demografischen Daten der Patienten mit atopischer Dermatitis dargestellt.

Untersucht wurden 26 Blutseren von 15 männlichen und 11 weiblichen Patienten mit atopischer Dermatitis. Das Alter der männlichen Patienten lag im Median bei 27 Jahren und bei den weiblichen bei 32 Jahren. Das Beginnalter für die Erkrankung ist bei beiden Geschlechtern seit der Geburt. Weiterhin wird hier der EASI-Score (Eczema Area Severity Index) angegeben. Dieser beschreibt die Ausdehnung und Schweregrad der Erkrankung bei der Neurodermitis (atopische Dermatitis). Der EASI-Score liegt im Median bei den weiblichen Patienten bei 7,2 und bei den männlichen bei 4,2 Punkten.

Im Vergleich zu den Normalkontrollen unterscheiden sich die Atopiker hinsichtlich der Altersverteilung, in dem sie hochsignifikant ($p < 0,0001$) jünger waren als die gesunden Probanden. Jedoch ist die Geschlechtsverteilung in beiden Gruppen ausgeglichen.

Die RNase 7 konnte bei 22 (84,6%) der 26 Patienten mit atopischer Dermatitis nachgewiesen werden. Die Konzentration im Median bei 1,8 ng/ml. Der Umfang der RNase 7 Konzentration bewegte sich zwischen 0,3-40 ng/ml.

3.5 RNase 7 Konzentration bei Psoriasis und anderen entzündlichen Hauterkrankungen

TABELLE 3.5. RNase 7 bei Psoriasis und anderen entzündlichen Hauterkrankungen

	NK	Pso	AD	Ery	Zoster
Anzahl [n] Total	70	128	26	10	11
RNase 7 negativ [n] (%)	27 (38,6)	17 (13,3)	4 (15,4)	3 (30)	0 (0)
RNase 7 positiv [n] (%)	43 (61,4)	111 (86,4)**	22 (84,6)*	7 (70) ⁺	11 (100) [*]
w (%)	17 (39,5)	51 (45,9)	10 (45,5)	2 (28,6)	10 (90,9)
m (%)	26 (60,5)	60 (54,1)	12 (54,5)	5 (71,4)	1 (9,1)
RNase 7 (ng/ml)					
MW	3,3	15,3	6,2	2,3	5,2
SD	9,8	126,1	9,4	3,9	11,6
Median	0,7	0,9 ⁺	1,8 [*]	0,7 ⁺	1,7 [*]
Umfang	0,3-68,4	0,3-1417,5	0,3-40,0	0,3-9,9	0,3-40,0

*NK= Normalkontrollen, Pso= Psoriasis, AD.= Atopische Dermatitis, Ery= Erysipel, w= weiblich, m= männlich, n= Anzahl, MW= Mittelwert, SD= Standardabweichung, ⁺: nicht signifikant, * $p<0,05$, ** $p<0,0001$ (jeweils im Vergleich zu NK)*

In der Tabelle 3.5. ist die RNase 7 Konzentration bei Psoriasis, atopischer Dermatitis und anderen entzündlichen Hauterkrankungen dargestellt. In dieser Tabelle werden die RNase 7 Konzentrationen von zwei nicht infektiösen Hauterkrankungen, der Psoriasis und der atopischen Dermatitis, zwei infektiösen Hauterkrankungen, dem Erysipel (bakteriell entzündliche Hauterkrankung) sowie dem Zoster (virale Hauterkrankung) gegenüber gestellt und mit den gesunden Normalkontrollen verglichen.

Bei 43 (61,4%) der gesunden Probanden konnte RNase 7 im Blut nachgewiesen werden. Die Konzentration der RNase 7 lag im Median bei 0,7 ng/ml und damit knapp über der Nachweisgrenze von 0,3125ng/ml. Der Umfang bewegte sich zwischen 0,3125- 68,4 ng/ml.

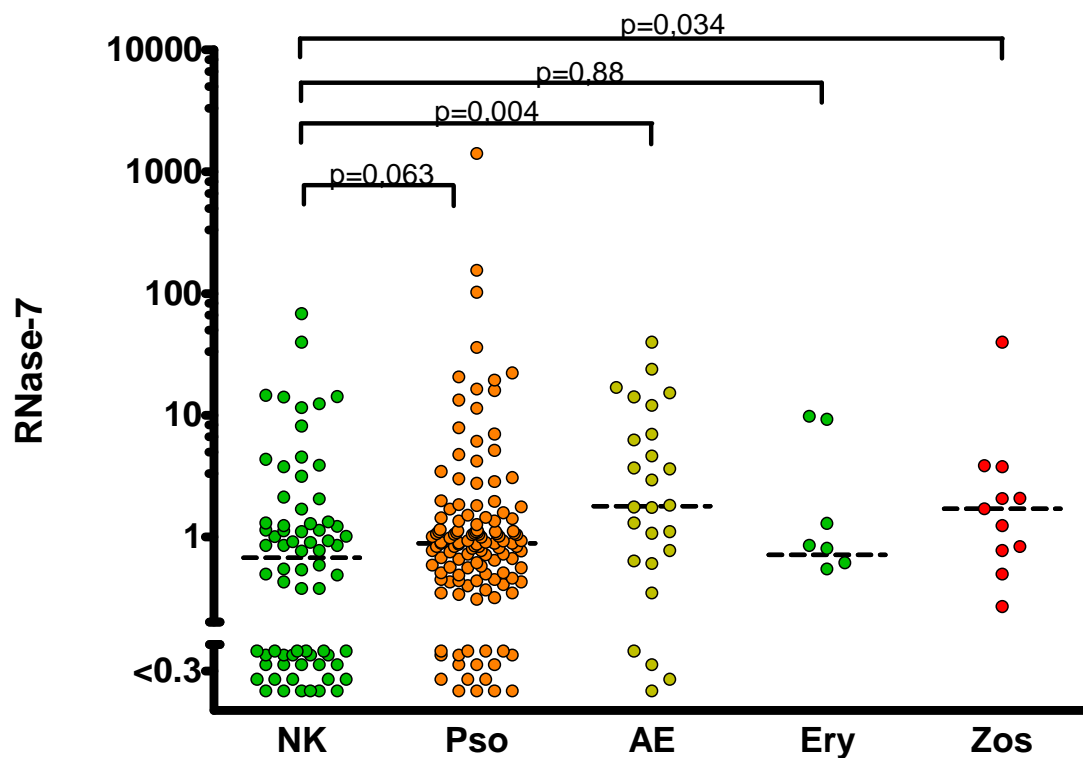
In der Psoriasisgruppe konnte von den untersuchten 128 Blutseren RNase 7 in 111 (86,4%) Blutseren von 51 weiblichen und 60 männlichen Patienten, und damit signifikant öfter

($p < 0,0001$) als in der Kontrollgruppe nachgewiesen werden. Die RNase 7 Konzentration lag im Median mit 0,9 ng/ml ein wenig höher als bei den gesunden Kontrollen. Der Umfang bewegte sich zwischen 0,3125 und 1417,55 ng/ml. Verglichen mit den Normalkontrollen ist der Unterschied der RNase 7 Konzentration in dieser Gruppe nicht signifikant.

Bei atopischer Dermatitis wurde RNase 7 bei 22 (84,6%) Patienten, ebenfalls im Vergleich zu den Normalkontrollen (61,4%), signifikant ($p < 0,05$) häufiger nachgewiesen. Im Blutserum der 10 weiblichen und 12 männlichen Probanden lag der Median der RNase7 Konzentration bei 1,8 ng/ml mit einem Umfang von 0,3125-40,00 ng/ml und stellte damit den höchsten Wert der Mediane dar und ist verglichen mit den gesunden Probanden (0,7 ng/ml) signifikant ($p < 0,05$) erhöht.

Bei den beiden zusätzlichen Studiengruppen Erysipel (10) und Zoster (11) konnte RNase 7 im Serum von 30% bzw. 100% der Patienten detektiert werden. Verglichen mit den Normalkontrollen fiel der Nachweis beim Zoster signifikant häufiger und die Konzentration mit einem Median von 1,7 ng/ml signifikant höher aus, während beim Erysipel weder der Nachweis (70%) noch die Höhe der RNase 7 Konzentration mit 0,7 ng/ml signifikant unterschieden werden konnte.

3.5.1 Die RNase 7 Konzentration



NK= Normalkontrollen, Pso= Psoriasis, AD= atopische Dermatitis, Ery= Erysipel, Zos= Zoster

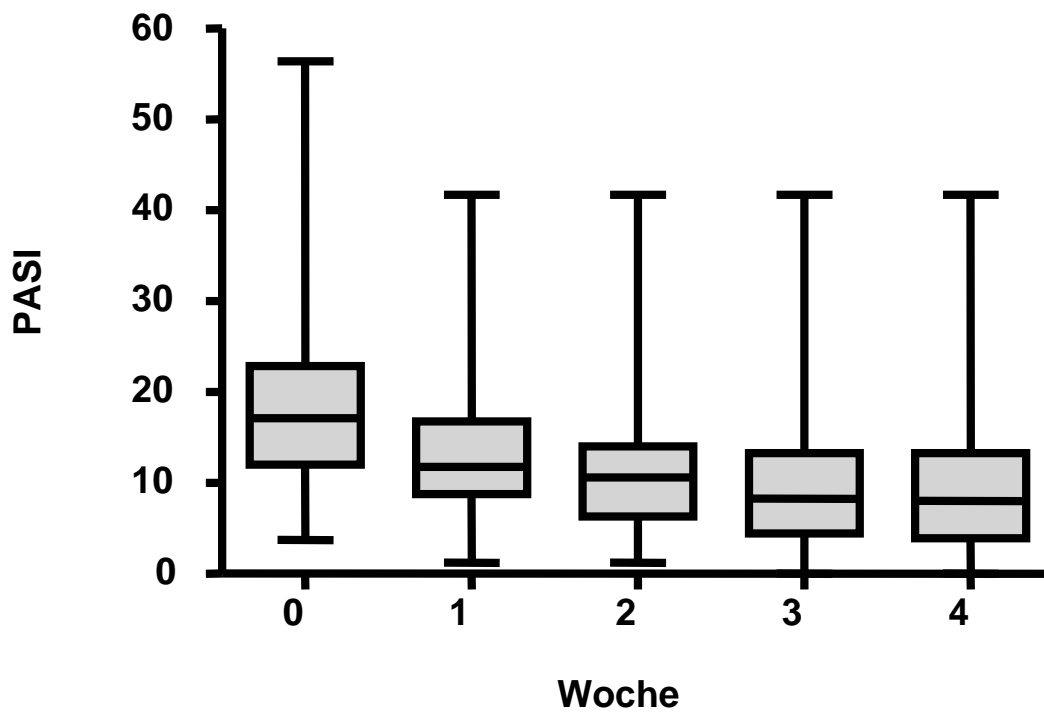
Abbildung 3.5.1 Die RNase 7 Konzentration

In dem in Abb. 3.5.1 gezeigten Punktwolken-Diagramm wird die RNase 7 Serumkonzentration von gesunden Probanden denen von Patienten mit Psoriasis, atopischer Dermatitis, Erysipel und Zoster gegenübergestellt. Mittels U-Test wurden die Medianunterschiede auf statistische Signifikanz geprüft, die jeweils den Balken zugeordnet angegeben wird.

Aufgrund der linksschiefen Verteilung der Daten erfolgt die Darstellung im Punktwolken-Diagramm mit einer logarithmischen Skalierung und Medianen. Während sich die Daten bei den gesunden Kontrollen an der Nachweisgrenze von 0,3125 ng/ml häufen, liegt diese Anhäufung bei der Psoriasis um den Median, bei 0,9 ng/ml. Bei der atopischen Dermatitis, Erysipel und Zoster, liegen die Mediane der RNase 7 Konzentrationen deutlich über der Nachweisgrenze. Da bei diesen Erkrankungen ein viel kleineres Kollektiv vorliegt, ist die Verteilung der Daten von großer Bedeutung. Wie aus dem Diagramm ersichtlich, ist die RNase 7 Konzentration bei Psoriasis mit 0,9 ng/ml und einem p-Wert von 0,063, beim atopischen Dermatitis 1,8 ng/ml und einem p-Wert von 0,004 und beim Zoster 1,7 ng/ml und einem p-Wert von 0,034 im Vergleich zu den gesunden Kontrollen mit einer Konzentration von 0,7 ng/ml jeweils erhöht. Die bakteriell entzündliche Hauterkrankung Erysipel ist im Vergleich zu den gesunden Kontrollen mit einem p-Wert von 0,88 nicht wirklich erhöht.

3.6 Die Schwere der Erkrankung während der Therapie

Um die Schwere der Erkrankung bzw. die Erkrankungsaktivität während der Therapie über 4 Wochen zu untersuchen, wurde der PASI vor Behandlungsbeginn und während der Therapie erhoben. Parallel dazu wurde die RNase 7 Konzentration ermittelt. Es wurde untersucht, ob sich die RNase 7 Konzentration während der Therapie parallel zum PASI verhält.



PASI = Psoriasis Area Severity Index

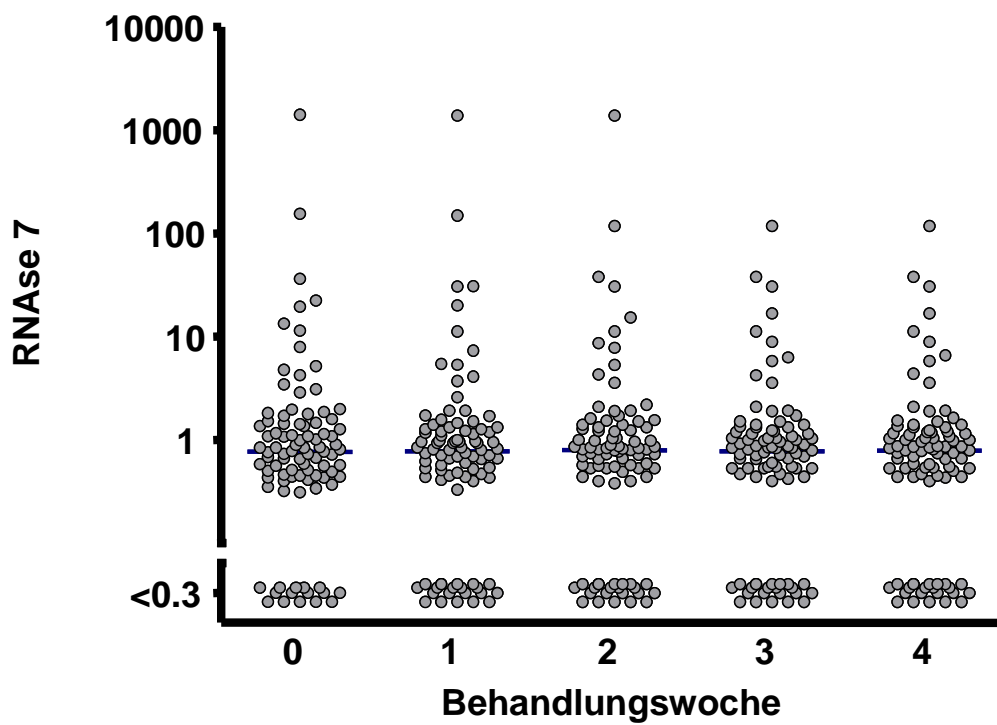
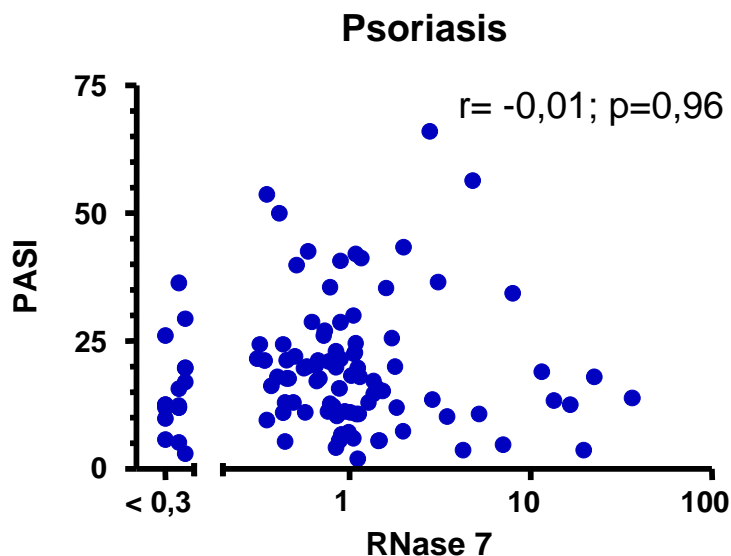


Abbildung 3.6.: Darstellung der RNase 7 Serumkonzentration im Verlauf der Therapie über 4 Wochen parallel zum PASI

In der Abbildung 3.6 ist in einem Box-Whisker-Plot-Diagramm der PASI während der Therapie dargestellt. Parallel dazu ist in Abbildung 3.6. ein Punkt-Wolken-Diagramm, welches die RNase 7 Konzentration während des Therapieverlaufes über 4 Wochen aufzeigt. So soll untersucht werden, ob RNase 7 sich als Marker zum Monitoring der Therapie eignet. Wie in Abbildung 3.6 zu sehen ist, reduziert sich die Baseline im Verlauf der Therapie über die Wochen. Parallel dazu ist die RNase 7 Baseline im Punkt-Wolken-Diagramm dargestellt. Wie im Diagramm 3.6. zu sehen, ist die RNase 7 Serumkonzentration nicht abhängig von der Schwere. Die Baseline der RNase 7 verändert sich während des Therpieverlaufs nicht wirklich. Dass kein Zusammenhang zwischen dem PASI und der RNase 7 Serumkonzentration hergestellt werden kann, zeigt die Berechnung des Spearman Rangkoeffizienten im Abschnitt 3.7.

3.7 Die Korrelation vom PASI-Score bei Psoriasis mit der RNase 7 Konzentration

Um zu untersuchen, ob in den einzelnen Proben die verstärkte RNase 7-Expression mit Zeichen der Differenzierung bzw. der entzündlichen Aktivität korreliert, wurde für alle analysierten Parameter der Rangkorrelationskoeffizient nach Spearman berechnet.



PASI= Psoriasis Area and Severity Index
p= probability value (Signifikanzwert)
r= Korrelationskoeffizient

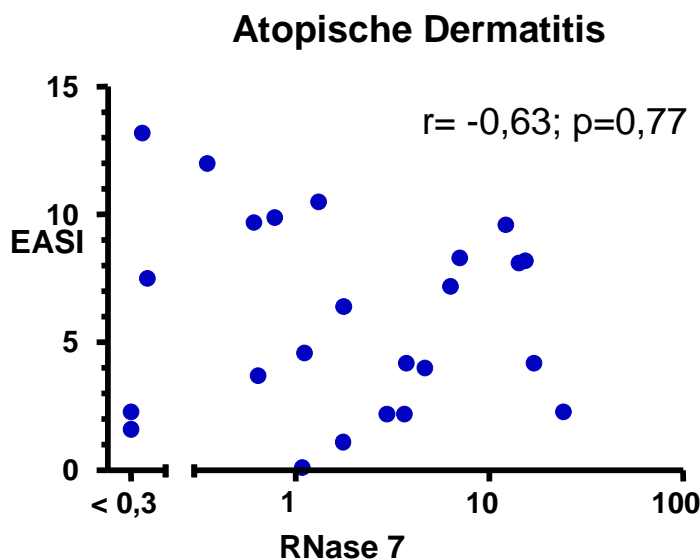
Abbildung 3.7: Korrelation zwischen dem Schweregrad der Psoriasis und der RNase 7 Konzentration

In der Abb. 3.5 wird der Zusammenhang zwischen dem Schweregrad der Erkrankung Psoriasis vulgaris, welche durch den PASI Score ermittelt wurde und der RNase 7 Konzentration dargestellt.

Wie aus dem Diagramm ersichtlich wird, besteht mit einem Korrelationskoeffizienten von $r = -0,01$ keine Übereinstimmung der Variablen zueinander. So ist hieraus zu entnehmen, dass der Schweregrad der Psoriasis, in keinerlei Beziehung zur RNase 7 Konzentration steht.

3.8 Die Korrelation vom EASI-Score bei atopischer Dermatitis mit der RNase 7 Konzentration

Hier wurde ebenfalls untersucht, ob ein Zusammenhang zwischen der Schwere der atopischen Dermatitis und der RNase 7 Konzentration vorliegt. Um die Korrelation zwischen den Parametern zu prüfen, kam auch hier der Spearman Rangkoeffizient zum Einsatz.



EASI = Eczema Area Severity Index

P = probability value (Signifikanzwert), r = Korrelation

Abbildung 3.7: Korrelation zwischen dem Schweregrad der atopischen Dermatitis und der RNase 7 Konzentration

Das Diagramm in Abb. 3.6 zeigt den Zusammenhang zwischen dem Schweregrad der Erkrankung atopische Dermatitis, welchen der EASI-Score angibt, und der RNase 7 Konzentration auf.

Aus dem Diagramm geht hervor, dass mit dem negativen Korrelationskoeffizienten von $r = -0,63$ ein leicht gegenläufiger Zusammenhang besteht. Dieser Zusammenhang ist aber mit einem p-Wert von 0,77 nicht signifikant und damit liegt hier keine signifikante Korrelation zwischen dem Schweregrad beim atopischen Ekzem und der RNase 7 Konzentration vor.

4. Diskussion

4.1 Zusammenstellungen der Gruppen

In der vorliegenden Studie handelt es sich um eine Fall-Kontroll-Studie, in der eine retrospektive Untersuchung einer Stichprobe von Patienten (in diesem Fall Patienten mit chronisch entzündlichen Hauterkrankungen) und einer Stichprobe aus gesunden Personen (Normalkontrollen) vorgenommen wird. Bedingt durch die seriellen Blutabnahmen der Gruppen mit Hauterkrankungen, fließt ein prospektiver Teil in die Arbeit ein.

Der Vorteil der retrospektiven Untersuchung zur prospektiven besteht darin, dass der Krankheitsstatus bekannt ist, und so aus einer relativ kleinen Stichprobe eine verwertbare Aussage getroffen werden kann. Nachteile dieser Methode betreffen u. a. die Datenqualität. Es gibt keine Möglichkeit mehr, auf die Auswahl der Beobachtungseinheiten und der zu erfassenden Merkmale sowie die Mess- und Dokumentationsmethoden Einfluss zu nehmen. Unvollständige oder falsche Daten aus Krankenblättern oder unzuverlässig eingetragene Fragebögen können nicht mehr ergänzt oder korrigiert werden.

Der prospektive Teil der Studie überprüft eine gezielte Hypothese. Im Gegensatz zu der retrospektiven Auswertung von bereits vorhandenen Daten werden diese gemäß der Hypothese und über einen definierten Zeitraum gezielt erhoben.

Ein Vorteil dieser Methode ist, dass das Datenmaterial genau auf die Anforderungen der Studie hin zugeschnitten wird und somit eine vollständige Datenqualität bietet.

Die Verlässlichkeit und Validität der Daten werden durch die Unvollständigkeit der Daten in den Akten und die individuelle Weise der ärztlichen Anamnese und Befunddokumentation beeinflusst.

Die für die vorliegende Studie notwendigen Angaben hinsichtlich Anamnese und Hautbefunde wurden für alle Patienten mit Psoriasis, Neurodermitis, Erysipel und Zoster in vergleichbarer Weise in den Akten dokumentiert. Die Verlaufsuntersuchung aller Patienten mit seriellen Blutabnahmen (bei der Aufnahme und während des stationären Aufenthaltes) unterlag einer ausführlichen Dokumentation der Labordiagnostik und Behandlung. Hier wurde bei allen Patienten ein standardisierter Erhebungsbogen der Klinik verwendet.

Die Schwere der Erkrankung bei Psoriasis- und Neurodermitis wurde anhand von PASI- und EASI-Score ermittelt, die ebenfalls in einem standardisierten Bogen erhoben wurden.

Für die Gruppe der Normalkontrollen, bestehend aus gesunden Probanden aus dem Institut für Transfusionsmedizin in Kiel, wurde eine Anamnese und Labordiagnostik durchgeführt. Diese konnte jedoch aufgrund des Datenschutzes hier nicht ausgewertet werden.

Zur Ermittlung und Zusammenstellung der Daten aus den Akten wurde für diese Studie ebenfalls ein standardisierter Fragebogen erstellt (siehe Anhang).

In der vorliegenden Untersuchung lagen zudem Variationen der Stichprobenzahl und eine ungleichmäßige Alters- und Geschlechtsverteilung der Gruppen vor, die die objektive Aussagekraft der Ergebnisse beeinflussen könnten.

4.2 RNase 7 bei gesunden Probanden

In dieser Studie konnte erstmalig RNase 7 im Blutserum von gesunden Personen nachgewiesen werden. RNase 7 ist ein hochbasisches Protein, welche u. a. im Stratum corneum der gesunden menschlichen Haut exprimiert wird.

Im Vergleich zu hBD-2 und hBD-3 konnte in einer Untersuchung 10-100 fach mehr RNase 7 pro Gramm Hautschuppen gesunder Haut gewonnen werden⁹⁶. Psoriasin (43 µg/ml) konnte verglichen mit RNase 7 (5-10 µg/ml) aus gesunden Hautschuppen in höherer Menge gewonnen werden⁹⁷. Die mRNA-Expression der RNase 7 jedoch konnte im Vergleich zu anderen antimikrobiellen Peptiden wie Psoriasin, hBD-2, hBD-3 und LL-37 in unstimulierten, humanen primären Keratinozyten auf einem hohen Niveau nachgewiesen werden^{98,96}. Damit stellt sich RNase 7 im Vergleich zu anderen antimikrobiellen Peptiden als ein dominierender antimikrobieller Faktor dar, der von primären Keratinozyten sezerniert wird⁹⁸.

Weiterhin repräsentiert sich RNase 7 auf der Molarenbasis als ein starkes und effektives humanes AMP¹⁴. RNase 7 zeigt nicht nur gegen gramnegative und grampositive Bakterien eine potente antimikrobielle Aktivität auf, sondern tötet auch in niedrigen Konzentrationen die Hefe *Candida albicans* ab. Pathogene Keime wie Vancomycin-resistente *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis* und MRSA (Methicillin-resistente-*Staphylococcus aureus*) werden durch RNase 7 mit einer Letalen Dosis LD 90 im nanomolaren Bereich effizient abgetötet.

Trotz ihrer hohen konstitutiven Expression wird eine Induzierbarkeit von RNase 7 vermutet. Es konnte in Untersuchungen gezeigt werden, dass proinflammatorische Zytokine wie IL-1β, IFN-γ sowie in geringem Maße TNF-α, die Expression von RNase 7 mRNA induzieren⁷⁷.

Auch hitzegetötete Bakterien induzieren die RNase 7 Expression. Diese Ereignisse zeigen, dass die RNase 7 Expression unter entzündlichen Bedingungen in der menschlichen Haut ansteigt ⁹⁹.

In unserer Studie konnte aus einem Kollektiv von 70 Probanden RNase 7 bei 43 (61,4%) Personen nachgewiesen werden. Die RNase 7 Konzentration korrelierte weder mit dem Alter, noch mit dem Geschlecht.

Bei 35 dieser 43 Probanden lagen die RNase 7 Konzentrationen im Serum unter 8 ng/ml und bei den restlichen 11 Probanden, über 8 ng/ml. Aufgrund der Fallzahl ist die Aussagekraft hinsichtlich eines „Normbereiches“ eingeschränkt. Die Probanden mit der RNase 7 Serumkonzentration über 8 ng/ml präsentieren möglicherweise eine Konzentrationshöhe von besonderem Interesse. Serumkonzentrationen über 32 ng/ml erscheinen evtl. krankheitsbedingt erhöht. Es sei erwähnt, dass die Probanden aus der Kontrollgruppe Spender einer Blutbank waren. Bei diesen Personen wurde eine Anamnese und Labordiagnostik von der Transfusionsmedizin vorgenommen. Aufgrund des Datenschutzes lagen diese uns nicht zur Auswertung vor. Diese Patienten galten unter den Kriterien für Blutspender als gesund, womit Infektionskrankheiten wie HIV, Syphilis und Hepatitis ausgeschlossen werden. Möglich ist jedoch, dass unter den Spendern Probanden mit AD, Psoriasis oder einer anderen entzündlichen Erkrankung gab. Somit kann nicht ausgeschlossen werden, dass erhöhte RNase 7 Werte im Blutserum der Normalkontrollen von diesen Probanden stammen.

Prinzipiell stellt sich die Frage, was die Herkunft der RNase 7 im Serum ist. In der menschlichen Haut sind die Keratinozyten die Hauptquelle für die AMP. Zusätzlich können neutrophile Granulozyten, Mastzellen und T-Zellen in der Haut sowie ekkrine Schweißdrüsen, Haarwurzelzellen und Sebozyten auch AMP produzieren. Sie können konstitutiv oder nach einer Entzündung exprimiert werden.

Antimikrobielle Peptide und Proteine repräsentieren unterschiedliche Gruppen von kleinen kationischen endogenen Proteinen, die eine antimikrobielle Aktivität gegen Bakterien, Pilze und Viren aufzeigen und darüber hinaus eine große Rolle in der angeborenen Abwehr spielen. Studien der letzten Dekaden konnten zeigen, dass die menschliche Haut und andere epitheliale Gewebe sowie Leukozyten in der Lage sind, eine Vielzahl antimikrobieller Peptide zu produzieren ¹⁴.

Die Wirkungsweise der meisten AMP ist noch nicht vollständig verstanden. Einige AMP steigern die Permeabilität des bakteriellen Zytoplasmas als ein Teil ihres Zerstörungsmechanismus. Kürzlich erschienene Studien konnten zeigen, dass AMP nicht nur als natürliche

Antibiotika fungieren, sondern auch als Signalmoleküle eine entscheidende Rolle im Zusammenspiel der angeborenen mit der erworbenen Immunreaktion einnehmen¹⁰⁰.

Andere Studien konnten den Nachweis von weiteren antimikrobiellen Peptiden im Blutserum gesunder Probanden liefern.

Psoriasin (S100A7) konnte im Blutserum gesunder Personen nachgewiesen werden¹⁰¹.

Es handelt sich hier um ein Zn^{2+} abhängiges antimikrobielles Peptid, welches konstitutiv in den Keratinozyten der gesunden menschlichen Haut exprimiert wird und Mitglied der S100 Gen Familie ist.

Die Untersuchung des Blutserums von 70 gesunden Probanden ergab bei 20% eine nachweisbare Psoriasinkonzentration. Diese lag im Mittel bei 1,07 ng/ml.

Zusätzlich wurde in einer weiteren Studie Psoriasin (S100A7) ebenso im Blutserum von gesunden Personen nachgewiesen. Bei allen 14 untersuchten gesunden Probanden konnte eine S100A7 Konzentration im Mittel von 331ng/ml ermittelt werden¹⁰².

Aus diesen oben genannten Studien wird ersichtlich, dass trotz der Standardisierung der ELISA, diese doch noch zu unterschiedlichen Ergebnissen führen.

Weiterhin erfolgte der Nachweis des antimikrobiellen Peptides hBD-2 im Blut gesunder Kontrollen. Bei allen 70 Kontrollpersonen konnte eine hBD-2 Serumkonzentration im Mittel von 0,21+/- 0,17 ng/ml bestimmt werden¹⁰³.

Im Rahmen experimenteller Barrierestörung durch „Tape Stripping“ (Verwundung der Hautoberfläche) konnte bei gesunden Probanden eine schnelle Induktion von RNase 7 schon nach einer Stunde erreicht werden. Da RNase 7, eine potente breite antimikrobielle Aktivität aufweist, schützt es durch die schnelle Abgabe von RNase 7 während der kutanen Verwundung oberflächliche Hautwunden vor mikrobieller Besiedlung¹⁰⁴.

Hier wird nochmal neben der konstitutiven Expression von RNase 7 auf der nicht-läsionalen gesunden Haut die Induktion der RNase 7 Expression durch die Verwundung der Hautoberfläche bzw. in der läsionalen Haut erreicht.

Aufgrund der oben aufgeführten Studien mit dem Nachweis der AMP im Blutserum muss der Frage nachgegangen werden, wie die AMP in den Blutkreislauf gelangen und welche Rolle sie dort einnehmen. Mit dem Nachweis von RNase 7 im Blutserum gesunder Probanden kann die Hypothese aufgestellt werden, dass die RNase 7 wie auf der Haut gesunder Probanden dem Blutkreislauf und damit dem Organismus einen konstitutiven Schutz vor pathogenen Mikroorganismen bietet. Des Weiteren könnten die unterschiedlichen Serumkonzentrationen bei gesunden Probanden von genetischen Faktoren abhängen sodass Probanden mit höherer

RNase 7 Konzentration möglicherweise auch ein stärkeres angeborenes Immunsystem aufweisen. Eine Reduktion der RNase 7 könnte zu einer höheren Infektanfälligkeit führen.

Hohe Serumkonzentrationen könnten aufgrund einer Infektion durch Mikroorganismen oder proinflammatorische Zytokine induziert sein. Wie die RNase 7 in den Blutkreislauf gelangt, ob durch die Haut oder ob spezielle Zellen im Blut diese sezernieren, ist jedoch noch unbekannt und muss weiter erforscht werden. Die Expression von RNase 7 und ihre Immunreaktivität konnte in allen epidermalen Hautschichten aufgezeigt werden. Jedoch ist diese in den höheren Schichten verstärkt, besonders im Stratum corneum. Auch in der Haarwurzelscheide konnte eine Expression nachgewiesen werden, die in der äußeren Haarwurzelscheide höher war als in der inneren. Dieses stimmt mit der antimikrobiellen Funktion überein, da das AMP dort exprimiert wird, wo der erste Bakterienkontakt stattfindet⁹⁸. Somit könnte ein Transfer der RNase 7 durch die Basalmembran der Haut in den Blutkreislauf nicht ausgeschlossen werden.

4.3 RNase 7 bei Psoriasis

Erstmalig konnten wir den Nachweis von RNase 7 im Blutserum von Psoriasis-Patienten erbringen.

Im Vergleich zur gesunden Haut ist die der Psoriasis-Patienten stärker mit Mikroorganismen besiedelt. Zwar unterscheidet sich die Zusammensetzung der Bakterienflora nicht von derjenigen von Kontrollpersonen, jedoch ist die Anzahl der Mikroorganismen signifikant höher¹⁰⁵. Daher ist in der Psoriasisläsion eine ca. achtfache und auf unbedingter Haut eine etwa dreifache Bakteriendichte nachweisbar. Trotz der hohen Bakterienbesiedlung der psoriatischen Haut weisen Psoriasis-Patienten weniger Hautinfektionen auf, als zu erwarten wäre⁹. Im Vergleich zu Stratum corneum-Extrakten gesunder Personen, konnte RNase 7 aus Psoriasissschuppenextrakten in etwa zehnfach höherer Menge isoliert werden⁹⁶.

Immunhistologische in-vivo Untersuchungen zeigten eine verstärkte Expression für RNase 7 in läsionaler Psoriasishaut, die bei gleicher Lokalisation stärker ausfiel als bei Kontrollpersonen. Nicht-läsionale Psoriasishaut wurde hier nicht betrachtet (Bente Diss). Ebenso ist die RNase 7 mRNA-Expression in psoriatischer läsionaler Haut im Vergleich zu nicht-läsionaler und gesunder Haut erhöht (Bente Diss).

Weitere in-vivo Untersuchungen zu Immunreaktivität in läsionaler und nicht-läsionaler psoriatischer Haut ergaben eine erhöhte Expression von RNase 7 im Vergleich zu gesunden

Kontrollen. Auch eine in-vivo Untersuchung von Hautwaschungsflüssigkeiten ergab eine signifikant höhere RNase 7 Expression in läsionaler Haut der Psoriasispatienten, verglichen mit nicht läsionaler Psoriasis- und gesunder Haut, jedoch bestand kein signifikanter Unterschied zwischen den RNase 7 Mengen in nicht läsionaler Psoriasishaut und gesunder Haut¹⁰⁴.

Daher wird vermutet, dass zusätzlich zur verstärkten konstitutiven Expression von RNase 7 und anderen antimikrobiellen Peptiden in der nicht läsionalen Psoriasishaut RNase 7 in der läsionalen Psoriasishaut induziert wird¹⁴. So kann das Wachstum der Mikroorganismen in der läsionalen und nicht-läsionalen Haut der Patienten reduziert werden und trotz der höheren Bakteriendichte eine Infektion verhindert werden.

Aufgrund der bereits bekannten Untersuchungen und der Bedeutung von AMP bei Psoriasis zielte unsere Studie darauf ab, das Blutserum von Psoriasispatienten nach RNase 7 zu untersuchen und eine mögliche Korrelation mit der Schwere der Psoriasis zu überprüfen. Die Studiengruppe mit den Psoriasispatienten war fast um das Doppelte größer als die der Normalkontrollen. Die Alters- und Geschlechtsverteilung in beiden Gruppen war ausgewogen.

In unserer Studie konnte RNase 7 im Blutserum von Psoriasispatienten signifikant öfter nachgewiesen werden als bei den gesunden Kontrollen. Die leicht unterschiedlichen Konzentrationshöhen von RNase 7 zwischen den Psoriatikern mit 0,9 ng/ml und den gesunden Probanden (0,7 ng/ml) waren statistisch nicht signifikant. So konnte in unserer Untersuchung kein Anhaltspunkt für RNase 7 als spezifischen Marker für die Psoriasis-erkrankung gefunden werden. Ebenso wurde keine Korrelation von RNase 7 und der Schwere von Psoriasis nachgewiesen.

Wie in der psoriatischen Haut konnten im Blutserum von Psoriasispatienten noch weitere antimikrobielle Peptide neben RNase 7 detektiert werden, die zu unterschiedlich Ergebnissen führen.

Psoriasin S100A7 konnte im Serum von Psoriasispatienten nachgewiesen werden. Hier stieg die Psoriasin Serumkonzentration bei erhöhtem C-reaktivem Protein, welche auf eine Korrelation der Serumkonzentration mit der Schwere der Entzündungsaktivität hinweist. Während der Therapie nahm die Konzentration von S100A7 ab¹⁰¹.

Eine weitere Studie lieferte den Nachweis von S100A8 und S100A9 im Blutserum von Psoriatikern, wo die Serumkonzentration ebenfalls mit der Schwere der Erkrankung einherging¹⁰⁶. Eine weitere Arbeitsgruppe zeigte gleichermaßen den Nachweis von Psoriasin

im Blutserum auf. Im Gegensatz zur oben erwähnten Studie war die Konzentration geringer und fiel bei ansteigender Schwere der Erkrankung weiter ab ¹⁰².

Ebenso konnte hBD-2 im Blutserum von Psoriasispatienten nachgewiesen werden, welche dort eine bis zu 400-fach höhere Serumkonzentration aufwies als bei den Normalkontrollen ¹⁰². In der Haut von Psoriasispatienten wird hBD-2 als ein Psoriasis spezifisches AMP angesehen ⁸³.

Aufgrund der hohen Serumkonzentration von hBD-2 bei Psoriasispatienten ergibt sich die Frage, ob hBD-2 im Blutserum von diesen Patienten einen spezifischen Marker, beispielsweise für die Schwere der Erkrankung darstellt. Mit diesen Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass RNase 7 wie auch andere AMP nicht nur auf den Grenzflächen nachweisbar sind, sondern auch im Blutserum. Verschiedene Hypothesen konnten ausgearbeitet werden.

Eine Hypothese wäre, dass beim gesunden Menschen RNase 7 und auch andere AMP durch spezielle Blutzellen der Immunabwehr in die Blutbahn abgegeben werden und dort konstitutiv exprimiert werden. Eine bestimmte Konzentrations-Baseline wird eingehalten und bietet konstitutiven Schutz. Tritt eine Entzündung ein wie bei der Psoriasis, erhöht sich die Expression der AMP entweder durch proinflammatorische Zytokine oder durch den Bakterienkontakt, wo schlimmsten Falls eine Sepsis verhindert werden kann. Hier würden bestimmte PAMPs („pathogen associated molecular patterns“) durch Rezeptoren (PRRs „pathogen recognition receptors“) erkannt. Endotoxin und andere Zellwandbestandteile, aber auch nicht methylierte DNA, RNA und verschiedene Proteine zählen zu den PAMPs ¹⁰⁷.

PRRs sind sowohl intrazellulär als auch auf der Membran und im zirkulierenden Plasma präsent „Toll Like Rezeptoren“(TLR), die bekannteste Gruppe der PRRs, werden in Leukozyten und Epithelzellen in unterschiedlichen Mustern exprimiert. Des Weiteren könnten intrazelluläre PRRs wie die NOD („Nucleotid –binding oligomerization domain protein“) für Signalvermittlungen verantwortlich sein ¹⁰⁸. Ob die bakterielle Induktion von RNase 7 über TLR- oder NOD-Rezeptoren vermittelt werden könnte und welche Art von Rezeptoren für die RNase 7-Induktion verantwortlich sind, muß in Studien erforscht werden. Interessant wäre, zu untersuchen, ob die RNase 7 Freisetzung im Blut direkt durch mikrobielle Faktoren oder indirekt durch die Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen induziert wird.

Eine weitere Möglichkeit wäre, dass RNase 7 und andere AMP die Basalmembran durchbrechen und über die Haut in den Blutkreislauf gelangen.

In der Studie von Jansen et al. geht man davon aus, dass die Konzentrationshöhe der AMP, die im Serum detektiert werden, in höheren Mengen auf der Haut nachweisbar sind.

Es finden sich Hinweise dafür, dass die genetischen Kopierzahlen sowie die Aktivität der psoriasis-assoziierten Zytokine auf der Haut, die Menge der hBD-2 Expression im Serum bestimmen¹⁰³.

Diese Untersuchung führte uns zu der zu den oben aufgeführten Hypothesen komplementären These, dass die konstitutive hohe Expression von AMP genetisch und durch Umwelteinflüsse bedingt ist.

Die starke Expression von AMP könnte zu einer stärkeren Aktivierung der plasmazytoiden dendritischen Zellen führen, die wiederum über Botenstoffe wie TNF- α und IL-23, die Th-17 Zellen aktivieren, die dann über die Produktion von IL-17 und IL-22 die Psoriasis implizieren würden.

Diese Annahmen sind nur jedoch Hypothesen, die weiter erforscht werden müssten.

4.4. Atopische Dermatitis und RNase 7

Im Rahmen dieser Studie konnte zum ersten Mal der Nachweis von RNase 7 im Blutserum von Atopikern erbracht werden.

Die atopische Dermatitis ist mit einer gestörten Permeabilität der Barrierefunktion assoziiert und die Epidermis ist mit einer Vielzahl potenziell pathogenen Mikroorganismen besiedelt^{36; 109; 110}. Bei der AD überwiegen in schweren Fällen und nach exzessivem Kratzen klinische Anzeichen für Impetiginisation¹¹¹.

Wie bei der Psoriasis ist die Rolle der AMP bei der atopischen Dermatitis noch weitgehend in der Aufklärung. Die ersten Studien berichteten über eine reduzierte Expression antimikrobieller Peptide in läsionaler Haut der AD-Patienten und die damit resultierende Schlussfolgerung, dass eine verringerte Expression und Induktion der AMP, zu einer erhöhten Anfälligkeit der AD- Patienten mit Infektionen führt, insbesondere mit *S. aureus*^{112, 113}.

In dieser Studie unterschied sich die Gruppe der Atopiker mit 26 Probanden hinsichtlich des Alters erheblich von den Normalkontrollen und war signifikant jünger. Die Geschlechtsverteilung in beiden Gruppen war ausgewogen.

RNase 7 konnte in der Gruppe Atopiker mit 84,6% signifikant häufiger nachgewiesen als bei den gesunden Probanden mit 61,4%.

Wir konnten RNase 7 im Blutserum von Atopikern mit einer Konzentrationshöhe von 1,8 ng/ml messen, welche im Vergleich zu den gesunden Probanden (0,7 ng/ml) signifikant höher war. Die erhöhte RNase 7 Konzentration bei den Atopikern im Vergleich zu gesunden

Kontrollen könnte möglicherweise an der Barrierestörung und die damit verbundene erhöhte Bakterienbesiedlung der Haut liegen, wodurch die RNase 7 induziert wird. Da es sich hier ausschließlich um Patienten mit leichter bis moderater Atopie handelt, wissen wir nicht, wie hoch die Konzentrationen beim schweren Befall wären. Des Weiteren konnte zwischen der RNase 7 Konzentration und der Schwere der Erkrankung (EASI) kein Zusammenhang hergestellt werden.

In einer kürzlich erschienenen Studie ist die mRNA-Expression verschiedener AMP in der Haut von Patienten mit atopischer Dermatitis untersucht worden und mit der von Psoriasispatienten und Gesunden verglichen worden. Hier wurde nicht zwischen läsionaler und nicht läsionaler Haut unterschieden. Eine verstärkte Expression von RNase 7 konnte vorwiegend bei der atopischen Dermatitis gemessen werden⁸³. Der mRNA Level von RNase 7 bei Patienten mit atopischer Dermatitis war signifikant höher als bei Patienten mit Psoriasis und gesunden Kontrollen. Daher wird von den Autoren die These aufgestellt, dass RNase 7 ein spezifisches AMP für die atopische Dermatitis darstellen könnte⁸³.

RNase 7 wird konstitutiv in gesunder Haut exprimiert. Man vermutet eine durch Bakterien induzierte RNase 7 Expression⁷⁷. So wird die Überexpression von RNase 7 mRNA in läsionaler atopischer Haut mit steigender bakterieller Besiedlung der Läsionen assoziiert⁸³.

Eine kürzlich erschienene Studie zeigte im Vergleich zu der gesunden Haut eine Erhöhung von RNase 7 in läsionaler sowie in nicht läsionaler Haut der Patienten mit atopischer Dermatitis¹⁰⁴. Dieses bestätigt einerseits, dass die AMP bei Patienten mit atopischer Dermatitis nicht generell vermindert sind und andererseits, dass vermutlich konstitutiver Schutz der RNase 7 auf der nicht läsionalen Haut höher ist als bei der gesunden Haut.

Bei der in-vivo-Untersuchung konnte die Expression der AMP auf der Hautoberfläche immunhistologisch untersucht werden und ihre Konzentration durch die Untersuchung der Hautwaschflüssigkeiten bestimmt werden. In der läsionalen Haut der chronisch und akuten atopischen Dermatitis konnte RNase 7 signifikant höher nachgewiesen werden im Vergleich zu nicht läsionaler, atopischer Dermatitis-Haut wie die der gesunden Kontrollen¹⁰⁴.

In chronischen und akuten Läsionen von Patienten mit AD konnte, verglichen mit Psoriasis vulgaris, eine geringe Exprimierung von hBD-2, 3 und LL-37 aufgezeigt werden.

Zusätzlich wurde das von den Schweißdrüsen gesteuerte AMP, Dermicidin, im Schweiß der Atopiker im Vergleich zu Gesunden reduziert vorgefunden⁴⁰.

Die ersten Studien berichteten über eine verringerte Expression der AMPs in läsionaler Haut der Atopiker, welche zu der Hypothese führte, dass die verminderte Expression zu einer erhöhten Anfälligkeit der Patienten mit AD für Infektionen, besonders mit *S. aureus*

beiträgt^{112, 113}.

Kürzlich konnte in einer in-vivo Studie keine Korrelation zwischen der AMP-Sekretion und SCORAD bzw. die Schwere der Erkrankung und der *S. aureus* Kolonisation, hergestellt werden¹⁰⁴.

Diese Analyse deckte die Induktion von den untersuchten AMP wie RNase 7, Psoriasin, hBD-2 und 3 in der läsionalen Haut der AD Patienten auf. Sie zeigte, dass die AMP-Expression in der AD Haut nicht generell vermindert ist. Die Höhe der Expression und Sekretion in der Haut ist geringer als in der psoriatischen, was die bereits publizierten Studienergebnisse bestätigten⁸², allerdings liegen sie höher als in der gesunden Haut.

So kann man auch bei der atopischen Dermatitis davon ausgehen, dass RNase 7 konstitutiv auf nicht-läsionaler Haut durch die erhöhte Bakterienbesiedlung höher exprimiert wird und auf läsionaler Haut wahrscheinlich durch den Bakterienkontakt und die Barrierestörung der Haut induziert wird und eine höhere Konzentration erreicht.

Der signifikant erhöhte Nachweis von RNase 7 im Blutserum von Atopikern im Vergleich zu gesunden Kontrollen könnte ebenfalls durch Bakterien oder durch die Verwundungen der Haut induziert sein. Weiterhin bestätigt die RNase 7 Konzentration im Serum wahrscheinlich die bezüglich der Haut aufgestellte Hypothese, dass RNase 7 ein spezifisches antimikrobielles Peptid für AD darstellt, obwohl es nicht mit der Schwere korreliert⁸³.

4.5 RNase 7 bei infektiösen Hauterkrankungen

Um die Rolle der Spezifität der RNase 7 gegenüber anderen entzündlichen Hauterkrankungen zu prüfen, wurden den zwei nicht-infektiösen Hauterkrankungen, Psoriasis und atopische Dermatitis, zwei entzündlich infektiöse Hauterkrankungen, Erysipel und Zoster, gegenübergestellt.

Das Blutserum von Patienten mit der bakteriellen Infektion Erysipel und der viralen Infektion Zoster wurde ebenfalls auf RNase 7 untersucht und das Ergebnis mit Normalkontrollen verglichen.

Beide Studiengruppen unterschieden sich im Hinblick auf die Alters- und Geschlechtsverteilung im Vergleich zu den Normalkontrollen.

Auch bei diesen beiden Studiengruppen konnte RNase 7 im Blutserum der Patienten nachgewiesen werden, während die Serumkonzentration von RNase 7 bei den Patienten mit

Zoster im Median bei 1,7 ng/ml lag und damit fast so hoch wie bei den Atopikern (1,8 ng/ml) war, lag die Serumkonzentration in der Gruppe Erysipel bei 0,7 ng/ml.

Da die Fallzahl in den Gruppen Erysipel und Zoster klein ist, ist die hier die Aussagekraft eingeschränkt. Der Nachweis von RNase 7 bietet jedoch einen Anreiz für nähere Untersuchungen. So wäre es interessant, zu untersuchen, ob RNase 7 tatsächlich auch antiviral aktiv ist. Es ist schon bekannt, dass EDN und ECP vermutlich eine antivirale Aktivität besitzen ¹¹⁴. In einer Studie von Harder et al. konnte in den ersten Versuchen für RNase 7 keine antivirale Aktivität gegenüber Herpes simplex Virus erkannt werden ⁷⁷. Auch in einer anderen Studie konnten nur negative Ergebnisse für die antivirale Aktivität von RNase 7 erzielt werden ⁷⁸.

Mit dem Nachweis von RNase 7 im Blutserum von Patienten mit Zoster könnten allerdings weitere Versuche mit größerer Probandenzahl die Hypothese bestätigen, dass RNase 7 vermutlich doch eine antivirale Aktivität wie EDN und ECP besitzt.

Rückblickend lässt sich zusammenfassen, dass RNase 7 im Blutserum von gesunden Probanden nachgewiesen werden konnte. Die Konzentrationshöhe lag im Mittel knapp über der Nachweisgrenze. Bei diesen gesunden Probanden konnten auch hohe Serumkonzentrationen gemessen werden, welche aber ebenso durch eine unbekannte Infektion im Körper, etwa bereits durch eine einfache Karies, verursacht sein könnten.

RNase 7 konnte ferner im Blutserum von Patienten mit Hauterkrankungen wie Psoriasis, atopischer Dermatitis, Erysipel und Zoster öfter nachgewiesen werden als bei den gesunden Probanden. Die RNase 7 Serumkonzentration war im Vergleich zu den gesunden Probanden höher. Nur bei Erysipel war diese gleich hoch wie bei den Normalkontrollen.

Mehrere Fragen ergeben sich hinsichtlich der Herkunft von RNase 7 sowie der unterschiedlichen Konzentrationshöhen und ihrer konstitutiven Expression im Blut versus ihrer Induzierbarkeit und die Korrelation von RNase 7 mit der Schwere der Erkrankung.

Als Quelle für RNase 7 auf der Haut sind die Keratinozyten bereits bekannt. Was gilt nun aber für das Blut? Da RNase 7 in allen epidermalen Schichten der Haut isoliert werden konnte, gelangt möglicherweise das antimikrobielle Peptid über die Basalmembran der Haut in den Blutkreislauf. Eine andere Möglichkeit wäre, dass spezielle Immunzellen im Blut für die Sezernierung von RNase 7 verantwortlich sind.

Weiterhin ist bekannt, dass RNase 7 sowohl konstitutiv exprimiert wird als auch durch Infektionen induziert werden kann. Die Induzierbarkeit kann durch den Bakterienkontakt oder durch proinflammatorische Zytokine aktiviert werden. Für den Bakterienkontakt spricht die

erhöhte Expression der höchsten epidermalen Schichten wie im Stratum corneum und Stratum granulosum, wo der erste Bakterienkontakt stattfindet. Die Aktivierung von proinflammatorischen Zytokinen und die damit verbundene Expression von RNase 7 in der Haut konnte schon nachgewiesen werden. Die erhöhte Expression von RNase 7 findet auch bei Hauterkrankungen mit / und ohne systemische Erkrankung statt. Wir haben uns die Frage gestellt, warum die RNase 7 Expression nicht beim Erysipel, welches eine systemische Erkrankung mit erhöhten Entzündungsparametern aufweist und von der Haut ausgehend ist, besonders erhöht ist. Diese Frage kann vermutlich erst dann richtig beantwortet werden, wenn man eine höhere Fallzahl untersucht und zwischen akutem und wieder abnehmendem Entzündungsstadium unterscheidet. Darüber hinaus hat uns immer wieder die Frage beschäftigt, warum die RNase 7 Konzentration nicht mit der Schwere der Erkrankung einhergeht. Dies konnte jedoch bisher nicht geklärt werden. Die Tatsache, dass sie sowohl bei gesunden als auch bei multiplen unabhängigen Erkrankungen nachzuweisen ist, spricht für die konstitutive Expression von RNase 7.

Unsere Hypothese wäre nun, dass die konstitutive Expression von RNase 7 sowohl genetisch als auch durch Umwelteinflüsse bedingt ist. So trägt vermutlich jeder Mensch eine genetisch bestimmte Konzentrations-Baseline in sich, welche dem Organismus einen konstitutiven Schutz vor pathogenen Mikroorganismen bietet. Die RNase 7 Konzentration ist mutmaßlich wie das Immunsystem bei jedem unterschiedlich. Infektionen durch Bakterien induzieren eine erhöhte RNase 7 Expression. Die von uns untersuchten Hauterkrankungen weisen alle eine verminderte Immunabwehr und damit eine erhöhte Bakterienbesiedlung auf.

Eine andere Hypothese wäre eine verstärkte Aktivierung von plasmazytoiden dendritischen Zellen, die über Botenstoffe die Erkrankungen implizieren könnten. Wichtig ist jedoch zu überprüfen, ob die RNase 7 Konzentration auf der Haut mit derjenigen im Blut korreliert. Auch die Assoziation zu verschiedenen Bakterien sowie *S. aureus* sollte nochmals genau überprüft werden. Ein weiteres interessantes Forschungstheama wäre die Untersuchung von RNase 7 beim Zoster und die damit zu überprüfende antivirale Aktivität von RNase 7.

5. Zusammenfassung

In meiner Arbeit konnte ich das hochwirksame antimikrobielle Protein RNase 7, das sich aus dem Stratum corneum gesunder und entzündlich erkrankter Haut isolieren läßt, erstmals im Serum gesunder Probanden nachweisen.

Dieses deutet daraufhin, dass RNase 7 nicht nur auf den Grenzflächen eine Abwehrfunktion gegenüber Krankheitserregern erfüllt, sondern auch im menschlichen Blutserum aktiv sein könnte. Welche Zellen RNase 7 in den Blutkreislauf sezernieren und welche Relevanz die Substanz im Blut von gesunden Personen einnimmt, ist noch unbekannt und muss weiter erforscht werden. Die relativ hohe Rate, mit der in meiner Untersuchung RNase 7 im Serum klinisch gesunder Personen gefunden werden konnte, deutet darauf hin, dass es teilweise konstitutiv exprimiert wird. Ob zusätzlich eine systemische Induktion, z.B. durch Bakterienkontakt, Zytokine oder andere proinflammatorische Signale vorliegt, ist unklar.

Aufgrund der in jüngster Zeit deutlich werdenden Bedeutung von AMP bei chronisch-entzündlichen Hauterkrankungen untersuchten wir das Serum von Patienten mit zwei der wichtigsten Hauterkrankungen, Psoriasis vulgaris und atopischer Dermatitis, auf das Vorliegen von RNase 7.

Dabei konnte erstmals RNase

7 bei Psoriasispatienten signifikant häufiger nachgewiesen werden als bei Normalkontrollen. Die Serumkonzentration von RNase 7 unterschied sich im Vergleich zu den Normalkontrollen jedoch nur geringfügig und korrelierte nicht mit der Schwere der Erkrankung (PASI). Somit konnte RNase 7 weder als ein spezifisches AMP für Psoriasis identifiziert werden noch als Biomarker für den Krankheitsverlauf dienen. Vermutlich liegt hier, wie bereits für die lokale Situation an der Haut beschrieben, eine hohe „innate Regulation“ vor. Diese könnte sehr gut genetisch bedingt sein, und über eine Stimulierung antigenpräsentierender Zellen mit nachfolgender Aktivierung von T-Zellen und Zytokinen an der Pathogenese der Psoriasis Anteil haben.

Bei Patienten mit Neurodermitis konnte RNase 7 in signifikant höherer Konzentration nachgewiesen werden als bei Normalkontrollen. Jedoch fand sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Konzentration im Serum und der Schwere der Neurodermitis, so dass RNase 7 danach nicht als Biomarker für Neurodermitis geeignet erscheint. Da die Neurodermitis eine Hauterkrankung ist, die im Vergleich mit Psoriasis stark zu bakterieller Besiedlung

und Superinfektion neigt, könnte die höhere RNase 7 Konzentration im Serum dieser Patienten einen Beleg für eine Induzierbarkeit dieses AMP im Serum darstellen.

Dafür spricht auch, dass wir bei sämtlichen Patienten mit Erysipel oder Herpes zoster, die als infektiöse Kontrollen untersucht wurden, RNase 7 im Serum nachweisen konnten.

Im weiteren Ausblick erscheint RNase 7 aufgrund der vorliegenden Daten nicht nur für die lokale Abwehr von Krankheitserregern an Grenzflächen bedeutsam, sondern möglicherweise als systemische Abwehrreaktion des Körpers auf das Eindringen von Krankheitserregern in den Organismus. Weitere Studien werden zeigen müssen, ob sich diese für krankhafte Zustände als relevant erweist, oder sich möglicherweise therapeutische Ansätze mit RNase 7 ergeben.

6. Literaturverzeichnis

- 1 J. C. Prinz. Neueste Aspekte in der Pathogenese der Psoriasis. *Hautarzt* 2003; 54: 209-214.
- 2 R. Sabat, S. Philipp, C. Hoflich *et al.* Immunopathogenesis of psoriasis. *Exp Dermatol* 2007; 16: 779-798.
- 3 R. P. Nair, P. E. Stuart, I. Nistor *et al.* Sequence and haplotype analysis supports HLA-C as the psoriasis susceptibility 1 gene. *Am J Hum Genet* 2006; 78: 827-851.
- 4 R. C. Trembath, R. L. Clough, J. L. Rosbotham *et al.* Identification of a major susceptibility locus on chromosome 6p and evidence for further disease loci revealed by a two stage genome-wide search in psoriasis. *Hum Mol Genet* 1997; 6: 813-820.
- 5 A. M. Bowcock, J. G. Krueger. Getting under the skin: the immunogenetics of psoriasis. *Nat Rev Immunol* 2005; 5: 699-711.
- 6 T. Henseler, E. Christophers. Psoriasis of early and late onset: characterization of two types of psoriasis vulgaris. *J Am Acad Dermatol* 1985; 13: 450-456.
- 7 M. P. Schön, W. H. Boehncke. Psoriasis. *N Engl J Med* 2005; 352: 1899-1912.
- 8 U. Mrowietz, K. Reich. Psoriasis-neue Erkenntnisse zur Pathogenese und Therapie. *Dtsch Ärztebl Int* 2009; 106: 11-18, .
- 9 T. Henseler, E. Christophers. Disease concomitance in psoriasis. *J Am Acad Dermatol* 1995; 32: 982-986.
- 10 D. M. Sommer, S. Jenisch, M. Suchan, E. Christophers, M. Weichenthal. Increased prevalence of the metabolic syndrome in patients with moderate to severe psoriasis. *Arch Dermatol Res* 2006; 298: 321-328.
- 11 E. Toichi, G. Torres, T. S. McCormick *et al.* An anti-IL-12p40 antibody down-regulates type 1 cytokines, chemokines, and IL-12/IL-23 in psoriasis. *J Immunol* 2006; 177: 4917-4926.
- 12 J. R. Chan, W. Blumenschein, E. Murphy *et al.* IL-23 stimulates epidermal hyperplasia via TNF and IL-20R2-dependent mechanisms with implications for psoriasis pathogenesis. *J Exp Med* 2006; 203: 2577-2587.
- 13 Y. Zheng, D. M. Danilenko, P. Valdez *et al.* Interleukin-22, a T(H)17 cytokine, mediates IL-23-induced dermal inflammation and acanthosis. *Nature* 2007; 445: 648-651.

- 14 J. Harder, J. M. Schröder. Psoriatic scales: a promising source for the isolation of human skin-derived antimicrobial proteins. *J Leukoc Biol* 2005 b; 77: 476-486.
- 15 D. Y. Leung, T. Bieber. Atopic dermatitis. *Lancet* 2003; 361: 151-160.
- 16 D. Y. Leung, M. Boguniewicz, M. D. Howell, I. Nomura, Q. A. Hamid. New insights into atopic dermatitis. *J Clin Invest* 2004; 113: 651-657.
- 17 F. D. Martinez. The coming-of-age of the hygiene hypothesis. *Respir Res* 2001; 2: 129-132.
- 18 D. P. Strachan. Hay fever, hygiene, and household size. *BMJ* 1989; 299: 1259-1260.
- 19 J. H. Droste, M. H. Wieringa, J. J. Weyler, V. J. Nelen, P. A. Vermeire, H. P. Van Bever. Does the use of antibiotics in early childhood increase the risk of asthma and allergic disease? *Clin Exp Allergy* 2000; 30: 1547-1553.
- 20 J. S. Alm, J. Swartz, G. Lilja, A. Scheynius, G. Pershagen. Atopy in children of families with an anthroposophic lifestyle. *Lancet* 1999; 353: 1485-1488.
- 21 T. Schäfer, T. Meyer, J. Ring, H. E. Wichmann, J. Heinrich. Worm infestation and the negative association with eczema (atopic/nonatopic) and allergic sensitization. *Allergy* 2005; 60: 1014-1020.
- 22 ISAAC. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Steering Committee. Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis and atopic eczema. *Lancet* 1998; 351: 1225-1232.
- 23 E. von Mutius, C. Fritzsche, S. K. Weiland, G. Roll, H. Magnussen. Prevalence of asthma and allergic disorders among children in united Germany: a descriptive comparison. *BMJ* 1992; 305: 1395-1399.
- 24 M. Kalliomaki, S. Salminen, T. Poussa, H. Arvilommi, E. Isolauri. Probiotics and prevention of atopic disease: 4-year follow-up of a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2003; 361: 1869-1871.
- 25 R. Fölster-Holst, F. Müller, N. Schnopp *et al.* Prospective, randomized controlled trial on *Lactobacillus rhamnosus* in infants with moderate to severe atopic dermatitis. *Br J Dermatol* 2006; 155: 1256-1261.
- 26 R. Fölster-Holst, M. Pape, Y. L. Buss, E. Christophers, M. Weichenthal. Low prevalence of the intrinsic form of atopic dermatitis among adult patients. *Allergy* 2006; 61: 629-632.
- 27 K. Wöllner, N. Novak. Neues zur Pathogenese der atopischen Dermatitis. *Hautarzt* 2007; 18: 27-30.

- 28 T. Bieber. Atopic dermatitis. *N Engl J Med* 2008; 358: 1483-1494.
- 29 K. C. Madison. Barrier function of the skin: "la raison d'etre" of the epidermis. *J Invest Dermatol* 2003; 121: 231-241.
- 30 M. Gfesser, J. Rakoski, J. Ring. The disturbance of epidermal barrier function in atopy patch test reactions in atopic eczema. *Br J Dermatol* 1996; 135: 560-565.
- 31 S. Weidinger, T. Illig, H. Baurecht *et al.* Loss-of-function variations within the filaggrin gene predispose for atopic dermatitis with allergic sensitizations. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 118: 214-219.
- 32 N. Novak, T. Bieber, D. Y. Leung. Immune mechanisms leading to atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2003; 112: 128-139.
- 33 I. Marenholz, R. Nickel, F. Ruschendorf *et al.* Filaggrin loss-of-function mutations predispose to phenotypes involved in the atopic march. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 118: 866-871.
- 34 C. Caubet, N. Jonca, M. Brattsand *et al.* Degradation of corneodesmosome proteins by two serine proteases of the kallikrein family, SCTE/KLK5/hK5 and SCCE/KLK7/hK7. *J Invest Dermatol* 2004; 122: 1235-1244.
- 35 E. Sonkoly, A. Müller, A. I. Lauerma *et al.* IL-31: a new link between T cells and pruritus in atopic skin inflammation. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117: 411-417.
- 36 D. Y. Leung. Infection in atopic dermatitis. *Curr Opin Pediatr* 2003; 15: 399-404.
- 37 P. Y. Ong, T. Ohtake, C. Brandt *et al.* Endogenous antimicrobial peptides and skin infections in atopic dermatitis. *N Engl J Med* 2002; 347: 1151-1160.
- 38 L. Y. McGirt, L. A. Beck. Innate immune defects in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 118: 202-208.
- 39 A. Izadpanah, R. L. Gallo. Antimicrobial peptides. *J Am Acad Dermatol* 2005; 52: 381-390.
- 40 S. Rieg, H. Steffen, S. Seeber *et al.* Deficiency of dermcidin-derived antimicrobial peptides in sweat of patients with atopic dermatitis correlates with an impaired innate defense of human skin in vivo. *J Immunol* 2005; 174: 8003-8010.
- 41 N. Novak, T. Bieber. The role of dendritic cell subtypes in the pathophysiology of atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol* 2005; 53: 171-176.
- 42 P. M. Wutzler, M. Herpes Zoster- Symptomatologie, demographische Daten und prognostischer Faktoren- Ergebnisse einer prospektiven Studie an ambulanten Zosterpatienten in Deutschland. *Deutsches Ärzteblatt* 1997; 94: 1129-1133.

- 43 W. C. Noble. Microbiology of specialized sites in relation to infection. In: Maibach H AR (ed) *Skin Microbiology Relevance to Clinical Infection*. Springer-Verlag, New York, Heidelberg, Berlin 1981; 1: 40-44.
- 44 H. G. Boman. Innate immunity and the normal microflora. *Immunol Rev* 2000; 173: 5-16.
- 45 A. Flemming. On a remarkable bacteriolytic element found in tissues and secretions. *Proc Roy Soc Ser* 1922; B 93: 306-317.
- 46 T. Ganz, R. I. Lehrer. Antibiotic peptides from higher eukaryotes: biology and applications. *Mol Med Today* 1999; 5: 292-297.
- 47 J. M. Schröder. Epithelial peptide antibiotics. *Biochem Pharmacol* 1999; 57: 121-134.
- 48 M. H. Braff, A. Bardan, V. Nizet, R. L. Gallo. Cutaneous defense mechanisms by antimicrobial peptides. *J Invest Dermatol* 2005; 125: 9-13.
- 49 P. Bulet, R. Stocklin, L. Menin. Anti-microbial peptides: from invertebrates to vertebrates. *Immunol Rev* 2004; 198: 169-184.
- 50 J. Harder, J. Bartels, E. Christophers, J. M. Schröder. A peptide antibiotic from human skin. *Nature* 1997; 387: 861.
- 51 C. J. Murphy, B. A. Foster, M. J. Mannis, M. E. Selsted, T. W. Reid. Defensins are mitogenic for epithelial cells and fibroblasts. *J Cell Physiol* 1993; 155: 408-413.
- 52 J. M. Schröder. Epithelial antimicrobial peptides: innate local host response elements. *Cell Mol Life Sci* 1999; 56: 32-46.
- 53 D. Yang, O. Chertov, J. J. Oppenheim. The role of mammalian antimicrobial peptides and proteins in awakening of innate host defenses and adaptive immunity. *Cell Mol Life Sci* 2001; 58: 978-989.
- 54 A. L. Cogen, V. Nizet, R. L. Gallo. Skin microbiota: a source of disease or defence? *Br J Dermatol* 2008; 158: 442-455.
- 55 R. L. Gallo, K. M. Huttner. Antimicrobial peptides: an emerging concept in cutaneous biology. *J Invest Dermatol* 1998; 111: 739-743.
- 56 V. L. Chen, D. S. France, G. P. Martinelli. De novo synthesis of lysozyme by human epidermal cells. *J Invest Dermatol* 1986; 87: 585-587.
- 57 C. Franken, C. J. Meijer, J. H. Dijkman. Tissue distribution of antileukoprotease and lysozyme in humans. *J Histochem Cytochem* 1989; 37: 493-498.
- 58 O. Wiedow, J. Harder, J. Bartels, V. Streit, E. Christophers. Antileukoprotease in human skin: an antibiotic peptide constitutively produced by keratinocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 1998; 248: 904-909.

- 59 A. Schadow, K. Scholz-Pedretti, G. Lambeau *et al.* Characterization of group X phospholipase A(2) as the major enzyme secreted by human keratinocytes and its regulation by the phorbol ester TPA. *J Invest Dermatol* 2001; 116: 31-39.
- 60 B. Schitteck, R. Hipfel, B. Sauer *et al.* Dermcidin: a novel human antibiotic peptide secreted by sweat glands. *Nat Immunol* 2001; 2: 1133-1137.
- 61 R. I. Lehrer, T. Ganz, M. E. Selsted. Defensins: endogenous antibiotic peptides of animal cells. *Cell* 1991; 64: 229-230.
- 62 H. G. Boman. Peptide antibiotics and their role in innate immunity. *Annu.Rev.Immunol* 1995; 13: 61-92.
- 63 A. Risso. Leukocyte antimicrobial peptides: multifunctional effector molecules of innate immunity. *J Leukoc Biol* 2000; 68: 785-792.
- 64 K. W. Bensch, M. Raida, H. J. Magert, P. Schulz-Knappe, W. G. Forssmann. hBD-1: a novel beta-defensin from human plasma. *FEBS Lett* 1995; 368: 331-335.
- 65 J. Harder, J. Bartels, E. Christophers, J. M. Schröder. Isolation and characterization of human beta -defensin-3, a novel human inducible peptide antibiotic. *J Biol Chem* 2001; 276: 5707-5713.
- 66 S. Yanagi, J. Ashitani, H. Ishimoto *et al.* Isolation of human beta-defensin-4 in lung tissue and its increase in lower respiratory tract infection. *Respir Res* 2005; 6: 130.
- 67 V. Nizet, T. Ohtake, X. Lauth *et al.* Innate antimicrobial peptide protects the skin from invasive bacterial infection. *Nature* 2001; 414: 454-457.
- 68 C. Fulton, G. M. Anderson, M. Zasloff, R. Bull, A. G. Quinn. Expression of natural peptide antibiotics in human skin. *Lancet* 1997; 350: 1750-1751.
- 69 J. Harder, J. M. Schröder. Antimicrobial peptides in human skin. *Chem Immunol Allergy* 2005; 86: 22-41.
- 70 E. V. Valore, C. H. Park, A. J. Quayle, K. R. Wiles, P. B. McCray, Jr., T. Ganz. Human beta-defensin-1: an antimicrobial peptide of urogenital tissues. *J Clin Invest* 1998; 101: 1633-1642.
- 71 S. M. Travis, N. N. Anderson, W. R. Forsyth *et al.* Bactericidal activity of mammalian cathelicidin-derived peptides. *Infect Immun* 2000; 68: 2748-2755.
- 72 M. Frohm, H. Gunne, A. C. Bergman *et al.* Biochemical and antibacterial analysis of human wound and blister fluid. *Eur J Biochem* 1996; 237: 86-92.
- 73 M. Frohm, B. Agerberth, G. Ahangari *et al.* The expression of the gene coding for the antibacterial peptide LL-37 is induced in human keratinocytes during inflammatory disorders. *J Biol Chem* 1997; 272: 15258-15263.

- 74 R. Gläser, J. Harder, H. Lange, J. Bartels, E. Christophers, J. M. Schröder. Antimicrobial psoriasin (S100A7) protects human skin from *Escherichia coli* infection. *Nat Immunol* 2005; 6: 57-64.
- 75 Y. Zheng, F. Niyonsaba, H. Ushio *et al.* Microbicidal protein psoriasin is a multifunctional modulator of neutrophil activation. *Immunology* 2008; 124: 357-367.
- 76 J. Harder, R. Gläser, J. M. Schröder. Human antimicrobial proteins effectors of innate immunity. *J Endotoxin Res* 2007; 13: 317-338.
- 77 J. Harder, J. M. Schröder. RNase 7, a novel innate immune defense antimicrobial protein of healthy human skin. *J Biol Chem* 2002; 277: 46779-46784.
- 78 J. Zhang, K. D. Dyer, H. F. Rosenberg. Human RNase 7: a new cationic ribonuclease of the RNase A superfamily. *Nucleic Acids Res* 2003; 31: 602-607.
- 79 T. Biedermann. Dissecting the role of infections in atopic dermatitis. *Acta Derm Venereol* 2006; 86: 99-109.
- 80 I. Nomura, E. Goleva, M. D. Howell *et al.* Cytokine milieu of atopic dermatitis, as compared to psoriasis, skin prevents induction of innate immune response genes. *J Immunol* 2003; 171: 3262-3269.
- 81 G. J. de Jongh, P. L. Zeeuwen, M. Kucharekova *et al.* High expression levels of keratinocyte antimicrobial proteins in psoriasis compared with atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 2005; 125: 1163-1173.
- 82 M. D. Howell, N. Novak, T. Bieber *et al.* Interleukin-10 downregulates anti-microbial peptide expression in atopic dermatitis. *J Invest Dermatol* 2005; 125: 738-745.
- 83 T. Gambichler, M. Skrygan, N. S. Tomi *et al.* Differential mRNA expression of antimicrobial peptides and proteins in atopic dermatitis as compared to psoriasis vulgaris and healthy skin. *Int Arch Allergy Immunol* 2008; 147: 17-24.
- 84 E. Christophers, T. Henseler. Contrasting disease patterns in psoriasis and atopic dermatitis. *Arch Dermatol Res* 1987; 279 Suppl: 48-51.
- 85 E. J. Hollox, U. Huffmeier, P. L. Zeeuwen *et al.* Psoriasis is associated with increased beta-defensin genomic copy number. *Nat Genet* 2008; 40: 23-25.
- 86 F. O. Nestle, C. Conrad, A. Tun-Kyi *et al.* Plasmacytoid predendritic cells initiate psoriasis through interferon-alpha production. *J Exp Med* 2005; 202: 135-143.
- 87 R. Lande, J. Gregorio, V. Facchinetti *et al.* Plasmacytoid dendritic cells sense self-DNA coupled with antimicrobial peptide. *Nature* 2007; 449: 564-569.

- 88 M. Marta Guarna, R. Coulson, E. Rubinchik. Anti-inflammatory activity of cationic peptides: application to the treatment of acne vulgaris. *FEMS Microbiol Lett* 2006; 257: 1-6.
- 89 T. Oono, W. K. Huh, Y. Shirafuji, H. Akiyama, K. Iwatsuki. Localization of human beta-defensin-2 and human neutrophil peptides in superficial folliculitis. *Br J Dermatol* 2003; 148: 188-191.
- 90 C. M. Chronnell, L. R. Ghali, R. S. Ali *et al.* Human beta defensin-1 and -2 expression in human pilosebaceous units: upregulation in acne vulgaris lesions. *J Invest Dermatol* 2001; 117: 1120-1125.
- 91 D. Y. Lee, K. Yamasaki, J. Rudsil *et al.* Sebocytes express functional cathelicidin antimicrobial peptides and can act to kill propionibacterium acnes. *J Invest Dermatol* 2008; 128: 1863-1866.
- 92 R. A. Dorschner, V. K. Pestonjamas, S. Tamakuwala *et al.* Cutaneous injury induces the release of cathelicidin anti-microbial peptides active against group A Streptococcus. *J Invest Dermatol* 2001; 117: 91-97.
- 93 J. D. Heilborn, M. F. Nilsson, G. Kratz *et al.* The cathelicidin anti-microbial peptide LL-37 is involved in re-epithelialization of human skin wounds and is lacking in chronic ulcer epithelium. *J Invest Dermatol* 2003; 120: 379-389.
- 94 J. Schmitt, G. Wozel. The psoriasis area and severity index is the adequate criterion to define severity in chronic plaque-type psoriasis. *Dermatology* 2005; 210: 194-199.
- 95 T. Fredriksson, U. Pettersson. Severe psoriasis--oral therapy with a new retinoid. *Dermatologica* 1978; 157: 238-244.
- 96 B. Rudolph Untersuchungen zur Bedeutung antimikrobieller Ribonukleasen für die epitheliale Infektionsabwehr. In. Kiel: Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, 2005.
- 97 R. Gläser Psoriasin (S100 A7): ein neues E.coli-selktives antimikrobielles Protein der Haut. In. Kiel: Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, 2003.
- 98 B. Köten, M. Simanski, R. Gläser, R. Podschun, J. M. Schröder, J. Harder. RNase 7 contributes to the cutaneous defense against Enterococcus faecium. *PLoS ONE* 2009; 4: e6424.
- 99 J. M. Schröder, J. Harder. Antimicrobial skin peptides and proteins. *Cell Mol Life Sci* 2006; 63: 469-486.
- 100 M. F. Tosi. Innate immune responses to infection. *J Allergy Clin Immunol* 2005; 116: 241-249; .

- 101 D. Eisenbeiss, S. Ardebili, J. Harder *et al.* The antimicrobial protein psoriasin (S100A7) is significantly upregulated in the peripheral blood of psoriasis patients. *J Invest Dermatol* 2006; 126: 61-61.
- 102 K. S. Anderson, J. Wong, K. Polyak, D. Aronzon, C. Enerback. Detection of psoriasin/S100A7 in the sera of patients with psoriasis. *Br J Dermatol* 2009; 160: 325-332.
- 103 P. A. Jansen, D. Rodijk-Olthuis, E. J. Hollox *et al.* Beta-defensin-2 protein is a serum biomarker for disease activity in psoriasis and reaches biologically relevant concentrations in lesional skin. *PLoS ONE* 2009; 4: e4725.
- 104 J. Harder, S. Dressel, M. Wittersheim *et al.* Enhanced Expression and Secretion of Antimicrobial Peptides in Atopic Dermatitis and after Superficial Skin Injury. *J Invest Dermatol* 2010; 130: 1355-1364.
- 105 G. Singh, D. J. Rao. Bacteriology of psoriatic plaques. *Dermatologica* 1978; 157: 21-27.
- 106 S. Benoit, A. Toksoy, M. Ahlmann *et al.* Elevated serum levels of calcium-binding S100 proteins A8 and A9 reflect disease activity and abnormal differentiation of keratinocytes in psoriasis. *Br J Dermatol* 2006; 155: 62-66.
- 107 C. A. Janeway, Jr., R. Medzhitov. Innate immune recognition. *Annu Rev Immunol* 2002; 20: 197-216.
- 108 P. J. Murray. NOD proteins: an intracellular pathogen-recognition system or signal transduction modifiers? *Curr Opin Immunol* 2005; 17: 352-358.
- 109 R. Aly, H. I. Maibach, H. R. Shinefield. Microbial flora of atopic dermatitis. *Arch Dermatol* 1977; 113: 780-782.
- 110 R. Aly, H. E. Maibach, A. Mandel. Bacterial flora in Psoriasis. *Br J Dermatol* 1976; 95: 603-606.
- 111 J. Lubbe. Secondary infections in patients with atopic dermatitis. *Am J Clin Dermatol* 2003; 4: 641-654.
- 112 M. Boguniewicz, D. Y. Leung. 10. Atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2006; 117: S475-480.
- 113 Y. T. Lin, C. T. Wang, B. L. Chiang. Role of bacterial pathogens in atopic dermatitis. *Clin Rev Allergy Immunol* 2007; 33: 167-177.
- 114 J. B. Domachowske, K. D. Dyer, C. A. Bonville, H. F. Rosenberg. Recombinant human eosinophil-derived neurotoxin/RNase 2 functions as an effective antiviral agent against respiratory syncytial virus. *J Infect Dis* 1998; 177: 1458-1464.

7. Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AB2	biotinylierter Antikörper
ABTS	2,2'azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonsäure
AD	Atopische Dermatitis
ADNase	Antistreptokokken DNase B
ALP	Antileukoprotease
AMP	Antimikrobielle Peptide
ASL	Antistreptolysintiter
BMI	Body-Mass-Index
BSA	Bovines Serumalbumin
BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
bzw.	beziehungsweise
CRP	C-reaktives Protein
DCD	Dermicidin
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DZ	Dendritische Zellen
EASI	Eczema Area Severity Index
ECP	Eosin-Cationic Protein
EDN	Eosinophil-Derived Neurotoxin
ELISA	„Enzyme-linked immunosorbent assay“
Ery.	Erysipel
et al.	et alii = und andere
FLG	Fillagrin
GER	Germany
HBD	Humanes Beta-Defensin
HLA	humane Leukozytenantigen
IDEC	inflammatorischen dendritischen epidermalen Zellen
IgE	Immunglobulin E
IL	Interleukin
KCl	Kaliumchlorid

kD	Kilo-Dalton (Molekularmasse)
KH_2PO_4	Kaliumhydrogenphosphat
LPS	Lipopolysaccharid
LZ	Langerhanszellen
m	männlich
MCC	Chymasehaltige Mastzellen
mRNA	“messenger RNA”
Mw	Mittelwert
n	Anzahl
Na_2CO_3	Natriumcarbonat
Na_2HPO_4	Natriumdihydrogenphosphat
NaCl	Natriumchlorid
NaHCO_3	Natriumhydrogencarbonat
NK	Normalkontrollen
NOD	„Nucleotid –binding oligomerization domain protein“
p-Wert	probability value (Signifikanz)
PAMPs	„pathogen associated molecular patterns“
PASI	Psoriasis Area and Severity Index
PBS	Phosphate Buffered Saline
pDCs	plasmazytoiden dendritischen Zellen
POD	Peroxidase
PRRs	„pathogen recognition receptors“
PsA	Psoriasis-Arthritis
Pso	Psoriasis
PSORS	„psoriasis susceptibility loci“
PUVA	Psoralen plus UV-A
r	Rangkorrelationskoeffizient
RNase-	Ribonuklease
SCCE	Stratum Corneum tryptisches Enzym
SCORAD	SCORing Atopic Dermatitis
SD	Standardabweichung
sog.	sogenannt
TEWL	Transepidermaler Wasserverlust
TGF- β	Transforming growth factor beta

Th-Zellen	T- Helfer-Zellen
TLR	Toll Like Rezeptoren
TNF- α	Tumor-Nekrose-Faktor alpha
Upm	Umdrehungen pro Minute
U-Test	Untersuchungstest
UV-A	Ultraviolettstrahlung im Wellenlängenbereich 315-380nm
UV-B	Ultraviolettstrahlung im Wellenlängenbereich 280-315nm
VZV	Varizella-Zoster-Virus
(w/v)	Gewicht pro Volumen
w	weiblich
z. B.	zum Beispiel
Zn	Zink
Zos	Zoster

8. Anhang

Name:
Vorname:

1. Probennr:
restl. Nr.:

geboren: | | | | | | | |
Geschlecht: f: ☐ m: ☐
Beginnalter: | | |

Hollerith-Nr.: | | | | | | | |
Größe: | | | | cm
Gewicht: | | | | kg
Aufn.-Datum: | | | | | | | |
HLA-Status: A B C
| | | | | | | |
| | | | | | | |

Familienanamnese: Ang. 1. Grades | | | (Anzahl) Ang. 2. Grades | | |

Beruf:

Raucher: ☐ NR ☐ Ex-R ☐ R:

Alkohol: ☐ selten/nie ☐ gelegentlich:
☐ Abusus ☐ regelmäßig:

Erkrankungen:

Diabetes mellitus

(0: nein, 1: ja, 2: frgl, 9: k.A.)

- Erkrankungsalter | | | |
- insulinpflichtig ☐
- orale Antidiabetika ☐

Hyperurikämie

(0: nein, 1: ja, 2: frgl, 9: k.A.)

- Harnsäure-red. Med. ☐

Arterielle Hypertonie

(0: nein, 1: ja, 2: frgl, 9: k.A.)

- β -Blocker ☐
- sonstige Antihypertensiva ☐

Hyperlipidämie

(0: nein, 1: ja, 2: frgl, 9: k.A.)

- Fettsenker ☐

sonstiges:

Morbus Crohn

☐

Ekzeme

☐

(nur wenn vermerkt!)

C. ulcerosa

☐

Atopien

☐

Allergien

☐

→

.....

sonstige

☐

→

.....

Anamnestiche Therapie:

(letzte 4 Wochen)

Lokalthherapie:

- Steroide offen ☐
- Steroide okklusiv ☐
- Cignolin ☐
- Vitamin D3 ☐
- ☐
- ☐

Lichttherapie:

- UVB – Therapie ☐

Psoralen UVA:

- Bade PUVA ☐
- Orale PUVA ☐

systemische Therapie:

- MTX ☐
- Retinoide (Vit.A-Säure) ☐
- Cyclosporin A ☐
- Fumaderm ☐
- Steroid ☐
- NSAID ☐
- ☐

andere:

- Infliximab ☐
- Etanercept ☐
- ☐
- ☐
- ☐

Krankheitsbild:**Verlaufsform:**

- akut exanthematisch ☐
- schubw. generalisierend ☐
- chronisch progredient ☐
- chronisch stationär ☐

Erscheinungsbild:

- Plaques ☐
- Erythrodermie ☐
- Psoriasis guttata ☐
- Intertriginöser Befall ☐
- Kopfhautbefall ☐

Pustulosis:

(0: nein, 1: ja, 2:frgl, 9: k.A.)

- palmar ☐
- plantar ☐
- Plaques cum pustul. ☐
- generalisata ☐
- Acrodermatitis cont. supp ☐

Gelenkbeteiligung:

(0: nein, 1: ja, 2:frgl, 9: k.A.)

- deformierend ☐
- Füße ☐
- Hände ☐
- Wirbelsäule ☐
- sternoclaviculär ☐

- Rheumafaktor

→ erhöht:

☐**Nagelveränderungen:**

(0: nein, 1: ja, 2:frgl, 9: k.A.)

- Hände ☐
- Füße ☐

Name:

Probennr.:

Vorname:

Datum der

Blutentnahme:

--	--	--	--	--	--	--	--

PASI:**Bewertungsskala: nicht - 0 - 1 - 2 - 3 - 4 - sehr stark**

(0 = nicht; 1 = leicht; 2 = mittel; 3 = stark; 4 = sehr stark)

	Kopf	Rumpf	Arme	Beine
Erythem				
Infiltration				
Schuppung				
betroffener Anteil der Körperregion (%)				

Labor:

	Laborparameter	normal	Erhöht	k.A.
Leukozyten				
BSG		/		
CRP				
ASL				
ADNase				

Aktuelle Therapie:

(Woche / Tag vor der BA)

Lokalthherapie:

- Steroide offen ☐
- Steroide okklusiv ☐
- Cignolin ☐
- Vitamin D3 ☐
- ☐
- ☐

Lichttherapie:

- UVB – Therapie ☐
- (m) J/cm²

Psoralen UVA:

- Bade PUVA ☐
- Orale PUVA ☐

systemische Therapie:

- MTX ☐
- Retinoide (Vit.A-Säure) ☐
- Cyclosporin A ☐
- Fumaderm ☐
- Steroid ☐
- NSAID ☐

andere:

- Infliximab ☐
- Etanercept ☐
- ☐
- ☐
- ☐

Komplikationen:Dermatitis ☐UV-Erythem ☐**Bemerkungen:**

.....

9. Danksagung

Meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. M. Weichenthal danke ich für die Überlassung des Dissertationsthemas und für die Bereitstellung des Laborplatzes in der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie. Weiterhin danke ich ihm herzlich für die Hilfe bei der statistischen Analyse der Ergebnisse und für seine umfassende engagierte und hervorragende Betreuung und die ständige Diskussionsbereitschaft bei meiner Doktorarbeit.

Frau Prof. Dr. R. Gläser danke ich für die zahlreichen Ratschläge, Hilfestellung und Anregung zur Erstellung und Durchführung der Laborversuche und für die nette Betreuung und stets freundliche Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Herrn Prof. Dr. J. Harder danke ich für die freundliche Leihgabe der Antikörper und der Hilfestellung bei den Laborexperimenten.

Des Weiteren danke ich Heilwig Janßen für die freundliche Hilfe und Unterstützung bei den Laborexperimenten.

Meinen Geschwistern Mariam und Ramin Ardebili danke ich für ihre Unterstützung und aufbauenden Worten während meines Studiums und während der Fertigstellung der Dissertationsarbeit.

Weiterhin danke ich ganz herzlich Jan-Hendrik Flörke für die großartige Unterstützung bei der Korrektur dieser Arbeit.

Ganz besonders möchte ich Christian Flörke danken, für seine Unterstützung und die zahlreichen Ratschläge beim Verfassen dieser Arbeit und dass er mir mit unermüdlichem Einsatz, Geduld und seinem aufmunterndem Wesen zu Seite steht.

Meine größte Wertschätzung gilt meinen Eltern, ohne deren grenzenlose und uneingeschränkte Liebe und finanzielle Unterstützung das Studium nicht möglich gewesen wäre. Ich danke Ihnen für die bedingungslose und liebevolle Fürsorge in allen Lebenslagen.

Teilpublikationen der vorliegenden Arbeit

Eisenbeiss D, Ardebili S, Harder J, Rudolph B, Schroeder J, Weichenthal M, et al. The antimicrobial protein psoriasin (S100A7) is significantly upregulated in the peripheral blood of psoriasis patients. J Invest Dermatol 2006;126:61-61.

Shabnam Ardebili